

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - UFPR

TALLULAH SPINA TENSINI

**INFLUÊNCIAS DO ESTADO IMUNOLÓGICO DO HOSPEDEIRO E DO
COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE NO CURSO CLÍNICO DA
MENINGITE CRIPTOCÓCICA: UM ESTUDO RETROSPECTIVO NO
PERÍODO DE 1983 A 2013, CURITIBA.**

CURITIBA – PR

2016

TALLULAH SPINA TENSINI

**INFLUÊNCIAS DO ESTADO IMUNOLÓGICO DO HOSPEDEIRO E DO
COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE NO CURSO CLÍNICO DA
MENINGITE CRIPTOCÓCICA: UM ESTUDO RETROSPECTIVO NO
PERÍODO DE 1983 A 2013, CURITIBA.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Monteiro de Almeida
Co-orientador: Prof. Dr. Flávio Queiroz-Telles

CURITIBA – PR

2016

S757 Spina-Tensini, Tallulah

Influências do estado imunológico do hospedeiro e do complexo de espécies infectante no curso clínico da meningite criptocócica: um estudo retrospectivo no período de 1983 a 2013, Curitiba. / Tallulah Spina Tensini. – Curitiba, 2016.

168 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Monteiro de Almeida

Co-orientador: Prof. Dr. Flávio Queiroz-Telles

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

1. Meningite criptocócica. 2. Síndrome de imunodeficiência adquirida. 3. Imunidade. I. Almeida, Sérgio Monteiro de. II. Queiroz-Telles, Flávio. III. Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

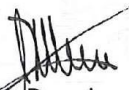
NLMC: WC 245

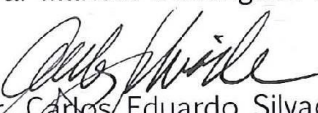


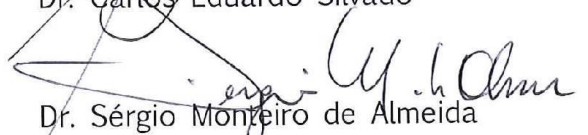
Ministério da Educação
Universidade Federal do Paraná
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
= MESTRADO e DOUTORADO =

PARECER

Aos quinze dias do mês de setembro do ano de dois mil e dezesseis, a banca examinadora constituída pelos Professores: Dra. Marisol Dominguez Muro (Faculdade Pequeno Príncipe - Pr), Dr. Carlos Eduardo Silvado (Depto. de Clínica Médica - UFPR) e Orientador: Dr. Sérgio Monteiro de Almeida (Laboratório de Virologia - UFPR), exarou o presente parecer sobre a dissertação elaborada por **TALLULAH SPINA TENSINI**, aluna concluinte do **Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna - Mestrado e Doutorado da Universidade Federal do Paraná**, intitulada: "INFLUÊNCIAS DO STATUS IMUNOLÓGICO DO HOSPEDEIRO E DO COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE NO CURSO CLÍNICO DA MENINGITE CRIPTOCÓCICA: UM ESTUDO RETROSPECTIVO NO PERÍODO DE 1983 A 2013, CURITIBA". A Banca examinadora considerou que a aluna apresentou trabalho adequado para dissertação e o defendeu com segurança e propriedade nas arguições que lhe foram feitas, de modo a merecer a sua **aprovação**, sendo recomendado à Universidade Federal do Paraná que lhe seja concedido o título de **Mestre em Medicina Interna**, após publicação de artigo em revista técnico-científica com corpo editorial, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das arguições, cumpridas outras exigências previstas em normativas da pós-graduação.



Dra. Marisol Dominguez Muro


Dr. Carlos Eduardo Silvado


Dr. Sérgio Monteiro de Almeida

Ata da Reunião Extraordinária do Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna realizada nos termos da Resolução da UFPR-Resolução nº 65/09 - CEPE

Aos quinze dias do mês de setembro do ano de dois mil e dezesseis às quatorze horas no Auditório do Departamento de Clínica Médica do CHC/UFPR, teve início a avaliação da dissertação de conclusão do mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna da Universidade Federal do Paraná, da aluna **TALLULAH SPINA TENSINI** intitulada: "INFLUÊNCIAS DO STATUS IMUNOLÓGICO DO HOSPEDEIRO E DO COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE NO CURSO CLÍNICO DA MENINGITE CRIPTOCÓCICA: UM ESTUDO RETROSPECTIVO NO PERÍODO DE 1983 A 2013, CURITIBA". A sessão foi aberta pela Professora Dra. Iara T. De Messias-Reason, que procedeu à apresentação dos componentes da banca examinadora e da aluna concluinte. A Banca Examinadora foi constituída pelos Professores: Dra. Marisol Dominguez Muro (Faculdade Pequeno Príncipe - Pr), Dr. Carlos Eduardo Silvado (Depto. de Clínica Médica - UFPR) e Orientador: Dr. Sérgio Monteiro de Almeida (Laboratório de Virologia - UFPR). A candidata dispôs de trinta minutos para apresentar o trabalho, seguindo-se a arguição pela Banca Examinadora em que cada membro dispôs de trinta minutos para argüir, com igual tempo concedido a aluna para defesa. Concluída a arguição, retirou-se a Banca Examinadora para consignação dos conceitos com lavratura do Parecer Conjunto que considerou o trabalho **aprovado**, sem modificações substanciais na forma e conteúdo, porem com as devidas inclusões sugeridas, o qual deve ter sua publicação nos meios de divulgação científica. No decurso das arguições e para que tudo constasse na forma do que se legalmente institui, foi a presente ata lavrada por mim Valeria Knapp secretaria, e vai assinada pelos componentes da Banca Examinadora para posterior homologação do Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna.


Dra. Marisol Dominguez Muro


Dr. Carlos Eduardo Silvado


Dr. Sérgio Monteiro de Almeida

DECLARAÇÃO

Declaro para fins curriculares que **TALLULAH SPINA TENSINI**, aluna concluinte do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna, apresentou e defendeu sua dissertação de mestrado intitulada: “**INFLUÊNCIAS DO STATUS IMUNOLÓGICO DO HOSPEDEIRO E DO COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE NO CURSO CLÍNICO DA MENINGITE CRIPTOCÓCICA: UM ESTUDO RETROSPECTIVO NO PERÍODO DE 1983 A 2013, CURITIBA**”. A banca examinadora foi composta pelos Professores: Dra. Marisol Dominguez Muro (Faculdade Pequeno Príncipe - Pr), Dr. Carlos Eduardo Silvado (Depto. de Clínica Médica - UFPR) e Orientador: Dr. Sérgio Monteiro de Almeida (Laboratório de Virologia - UFPR). Tendo a aluna concluinte sido aprovada, foi recomendada a Universidade Federal do Paraná, que lhe seja concedida o título de Mestre em Medicina Interna, após publicação da dissertação em veículo de divulgação conveniente, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das arguições.

Curitiba, 15 de setembro de 2016.

Professora Dra. Iara Taborda de Messias – Reason
Coordenadora de Pós-Graduação em Medicina Interna
Mestrado e Doutorado da UFPR.

Dedico este trabalho a todos os pacientes incluídos
no estudo e a todos os que porventura possam
se beneficiar de seus frutos.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sérgio Monteiro de Almeida, pela orientação, presença e amizade.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Flávio Queiroz-Telles, por sugestões muito pertinentes em momentos críticos do trabalho.

A todos os colaboradores da Seção de Micologia do setor de análises clínicas do HC-UFPR pelo apoio recebido, simpatia e disponibilidade. Em especial à Dra. Marisol Dominguez Muro por sugestões e orientações aguçadas e a Rosângela de Lameira Pinheiro por seu apoio e atenção.

A todos os colaboradores do Arquivo Hospitalar, por sua prontidão em auxiliar e simpatia, que tornaram as horas infundáveis dentro do setor mais leves.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Silvado, por seu apoio, amizade e forte encorajamento, sem os quais o início deste mestrado provavelmente seria adiado.

Ao Prof. Dr. Marcos Christiano Lange, que fomentou o início deste trabalho ainda durante a residência de neurologia e que sempre esteve presente com orientações e sugestões.

A Sarah Homenn, cujo auxílio e amizade foram fundamentais para a conclusão da revisão de prontuários. A Samia Talise Moraes e Isabella Strozzi que auxiliaram na revisão de parte dos prontuários.

A Ricardo Rasmussen Petterle, pela determinação em colaborar com toda a infundável análise estatística, amizade e sobretudo pela paciência.

A minha querida amiga Renata Dal-Prá Ducci, que esteve presente durante todo o período do trabalho, com seus conselhos sensatos e amizade inestimável.

Aos meus pais, Jonas Celestino da Silva e Nilzeia de Lourdes Spina Silva, que sempre me incentivaram e me estimularam a perseguir meus sonhos; vocês plantaram e cultivaram a semente do interesse científico. Muito obrigada por seu amor irrestrito e sua alegria com cada uma das pequenas conquistas. Amo vocês, sempre.

Ao meu amado irmão, Prof. Dr. Tayso Silva, meu grande exemplo e amigo. Obrigada por sua presença, amizade, orientação e incentivo.

Ao meu amor, meu esposo e melhor amigo, Fernando Spina Tensini, que enche todos os meus dias de felicidade, mesmo os mais difíceis. Obrigada por sua paciência, carinho, abraços e cuidado.

RESUMO

A meningite criptocócica é uma afecção grave e com alta mortalidade. Acomete principalmente pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e por isso apresentou um aumento expressivo de sua incidência a partir da década de 80, com a epidemia de HIV. A partir de então, observou-se que existiam diferenças na apresentação clínica e na análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes HIV positivos e negativos. O sistema imunológico do hospedeiro parece apresentar um papel essencial na determinação do curso da doença. Os objetivos do atual estudo são determinar as diferenças epidemiológicas, clínicas e de LCR entre pacientes HIV+, HIV negativos hígidos (IC) e HIV negativos com outras causas de imunodepressão (ID) e entre pacientes acometidos pelo CE *C. gattii* (CECG) ou CE *C. neoformans* (CECN).

Foram incluídos neste trabalho os pacientes com cultura positiva para *Cryptococcus* spp. no LCR identificadas no arquivo da Seção de Micologia do Setor de Análises Clínicas do HC-UFPR. Os pacientes com sorologia desconhecida para HIV foram excluídos. Ao todo, 247 pacientes foram incluídos, e divididos de duas formas (n,%): de acordo com seu estado imunológico em HIV+ (200, 80,9%), ID (21, 8,5%) e IC (26, 10,5%) ou de acordo com o complexo de espécies infectante em CECG (14, 5,6%) ou CECN (233, 94,7%). Dos 14 pacientes no grupo CECG, três (21,4%) eram do grupo HIV+ e 11 (78,5%) do grupo IC ($p=0,008$). As diferenças clínicas, de imagem e no LCR foram mais frequentes na comparação entre os grupos HIV+, ID e IC do que entre os grupos CECN e CECG. As características do LCR de admissão foram diferentes entre os grupos HIV+, ID e IC, mas apenas a celularidade ($p=0,014$), porcentagem de monócitos ($p=0,003$) e a glicorraquia ($p=0,014$) foram diferentes entre os grupos CECG e CECN. Não houve diferença de mortalidade entre os grupos. No LCR do desfecho, apenas a proteinorraquia ($p=0,025$) e a glicorraquia ($p=0,025$) foram diferentes entre os grupos HIV+, ID e IC. Já entre os grupos CECG e CECN essa diferença foi apenas na celularidade ($p=0,049$). No LCR do desfecho, observou-se maior pressão de abertura ($p=0,0007$), índice de cor ($p=0,02$) e porcentagem de neutrófilos ($p=0,042$) entre os pacientes que morreram.

Foram evidenciadas diferenças clínicas, radiológicas, laboratoriais e líquóricas entre pacientes de diferentes estados imunológicos e acometidos por diferentes complexos de espécies. Algumas das diferenças encontradas na comparação entre pacientes de diferentes complexos de espécies refletem a composição destes grupos, pois observou-se maior proporção de pacientes imunocompetentes no grupo CECG e HIV+ no grupo CECN. Os pacientes HIV negativos não apresentam um curso clínico homogêneo e várias diferenças foram encontradas entre os grupos ID e IC.

Palavras-chave: LCR, *Cryptococcus gattii*, *Cryptococcus neoformans*, HIV, estado imunológico.

ABSTRACT

Cryptococcal meningitis is a severe disease and has a high mortality rate. It affects mostly carriers of the immunodeficiency human virus (HIV) and thus its incidence has increased since the 80's, after the HIV epidemics. Thereafter, many differences in the clinical presentation and cerebrospinal fluid (CSF) between patients with and without HIV have been observed. The patient's immune system seems to play a central role in setting the disease's clinical course. The objectives of the present study are to evaluate epidemiological, clinical and CSF differences between patients HIV+, HIV negatives immunocompetents or HIV negatives immunodepressed due to other causes (ID) and between patients affected by *C. gattii sensu lato* (CECG) or *C. neoformans sensu lato* (CECN).

Every patient with a positive CSF culture for *Cryptococcus* spp. registered on the Clinical Hospital of Paraná Federal University from 1983 to 2013 was included. Patients without known HIV serology were excluded. Altogether, 247 patients were included and divided into groups in two ways (n, %): according to their immunological status into HIV+ (200, 80,9%), ID (21, 8,5%) or IC (26, 10,5%) and according to the affecting species complex into CECG (14, 5,6%) or CECN (233, 94,7%). From 14 patients in the CECG group, three (21,4%) were HIV+ and 11 (78,5%) were from the IC group ($p=0,008$). Clinical, radiological and CSF differences were found more commonly in the comparison between groups HIV+, IC and ID than between groups CECG and CECN. Admission CSF differed between groups HIV+, ID and IC, but only the total cytology ($p=0,014$), proportion of monocytes ($p=0,003$) and CSF glucose ($p=0,014$) differed between groups CECG and CECN. No difference on mortality was found between groups. On closure CSF, only proteins ($p=0,025$) and glucose ($p=0,025$) were different between groups HIV+, ID and IC. On the other hand, patients affected by different species complexes had different total cytology ($p=0,049$) only. On closure CSF, open pressure ($p=0,0007$), color index ($p=0,02$) and neutrophils proportion ($p=0,042$) were higher between patients who died.

In conclusion, there are clinical, radiological, laboratory and CSF differences between patients of different immunological status or affected by different species complex. Some of the differences found between groups CECG and CECN reflect the composition of these groups, with a higher proportion of immunocompetent patients on CECG group and HIV+ patients on CECN group. Patients HIV negatives did not present a homogeneous clinical course and many differences were found between groups ID and IC.

Keywords: CSF, *Cryptococcus gattii*, *Cryptococcus neoformans*, HIV, immunological status.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - SINAIS E SINTOMAS PRESENTES NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO CLÍNICA, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.....	63
TABELA 2 - SINAIS E SINTOMAS PRESENTES NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO CLÍNICA, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.....	64
TABELA 3 – RESULTADOS DA PRIMEIRA IMAGEM ENCEFÁLICA REALIZADA NA INTERNAÇÃO POR MENINGITE CRIPTOCÓCICA, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.....	66
TABELA 4 - RESULTADOS DA PRIMEIRA IMAGEM ENCEFÁLICA REALIZADA NA INTERNAÇÃO POR MENINGITE CRIPTOCÓCICA, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.....	66
TABELA 5 - ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DA ADMISSÃO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADOS IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.....	68
TABELA 6 - ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS DO LCR DE ADMISSÃO, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.....	74
TABELA 7 - ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS DO LCR DO DESFECHO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.	79
TABELA 8 - DIFERENÇAS NA EVOLUÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO LCR: RAZÃO ENTRE OS RESULTADOS DO LCR DA ADMISSÃO E DO LCR DO DESFECHO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.....	80
TABELA 9 – CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DA ADMISSÃO E NO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES NO GRUPO HIV+.	80

TABELA 10 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DA ADMISSÃO E NO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES NO GRUPO ID	81
TABELA 11 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DA ADMISSÃO E NO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES NO GRUPO IC.....	81
TABELA 12 - ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DO DESFECHO, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.....	84
TABELA 13 - DIFERENÇAS NA EVOLUÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO LCR: RAZÃO ENTRE OS RESULTADOS DO LCR DA ADMISSÃO E DO LCR DO DESFECHO, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.....	85
TABELA 14 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DA ADMISSÃO E NO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES NO GRUPO CECG.	85
TABELA 15 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DA ADMISSÃO E NO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES NO GRUPO CECN.	86
TABELA 16 - SINAIS E SINTOMAS PRESENTES NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS PACIENTES QUE FORAM A ÓBITO E DAQUELES QUE SOBREVIVERAM.....	91
TABELA 17 - RESULTADOS DA PRIMEIRA IMAGEM ENCEFÁLICA REALIZADA NA ADMISSÃO DOS PACIENTES QUE FORAM A ÓBITO E DAQUELES QUE SOBREVIVERAM.	92
TABELA 18 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS DO LCR DA ADMISSÃO DOS PACIENTES QUE FORAM A ÓBITO E DAQUELES QUE SOBREVIVERAM.	93
TABELA 19 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS DO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES QUE FORAM A ÓBITO E DAQUELES QUE SOBREVIVERAM.	93

TABELA 20 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS DO LCR DA ADMISSÃO E DO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES QUE FORAM A ÓBITO.	94
TABELA 21 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS DO LCR DA ADMISSÃO E DO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES QUE SOBREVIVERAM.	94
TABELA 22 - VALORES DO HEMOGRAMA DA ADMISSÃO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.	95
TABELA 23 - VALORES DO HEMOGRAMA DA ADMISSÃO, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.....	96
TABELA 24 - VALORES DO HEMOGRAMA DO DESFECHO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE	96
TABELA 25 - VALORES DO HEMOGRAMA DO DESFECHO, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.....	97
TABELA 26 - USO DOS ANTIFÚNGICOS ANFOTERICINA B E FLUCONAZOL, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.	98
TABELA 27 - USO DOS ANTIFÚNGICOS ANFOTERICINA B E FLUCONAZOL, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.....	98
TABELA 28 - CONDIÇÕES DE BASE DOS PACIENTES DO GRUPO ID E DROGAS IMUNOSSUPRESSORAS EM USO NO DIAGNÓSTICO DE MENINGITE CRIPTOCÓCICA.....	142
TABELA 29 - IDADE, SEXO, ESCOLARIDADE E OCUPAÇÕES MAIS FREQUENTES DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO.	143
TABELA 30 - IDADE, SEXO, ESCOLARIDADE E OCUPAÇÕES MAIS FREQUENTES DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.....	144
TABELA 31 - SINAIS E SINTOMAS NA APRESENTAÇÃO CLÍNICA, POR GRUPO, DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO.	145
TABELA 32 - SINAIS E SINTOMAS NA APRESENTAÇÃO CLÍNICA, POR GRUPO, DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.....	146

TABELA 33 - ALTERAÇÕES NEUROLÓGICAS ENCONTRADAS NA APRESENTAÇÃO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO.....	147
TABELA 34 - ALTERAÇÕES NEUROLÓGICAS ENCONTRADAS NA APRESENTAÇÃO, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES.	147
TABELA 35 - IMAGEM PULMONAR NA ADMISSÃO, DE ACORDO COM O GRUPO.	148
TABELA 36 - ACHADOS NA IMAGEM ENCEFÁLICA REALIZADA NA ADMISSÃO, DE ACORDO COM O GRUPO.....	149
TABELA 37 - TRATAMENTO ANTIFÚNGICO, DE ACORDO COM O GRUPO.	150
TABELA 38 - PACIENTES EXCLUÍDOS POR AUSÊNCIA DE SOROLOGIA CONHECIDA PARA HIV, CONDIÇÃO DE BASE, IDADE, SEXO, ANO DE ADMISSÃO E ÓBITO POR PACIENTE.....	151

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - FLUXOGRAMA DOS SUJEITOS INCLUÍDOS E EXCLUÍDOS NESTE ESTUDO E SUA DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS GRUPOS.....	53
FIGURA 2 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS PACIENTES RESIDENTES EM CURITIBA AFETADOS PELOS COMPLEXOS DE ESPÉCIES <i>C. neoformans</i> E <i>C. gattii</i> E DAS POPULAÇÕES DE POMBOS E DE ÁRVORES DE CURITIBA.	58
FIGURA 3 - CURVA DE SOBREVIVÊNCIA DE KAPLAN-MEYER DOS GRUPOS HIV+, IC E ID.	89
FIGURA 4 - CURVA DE SOBREVIVÊNCIA DE KAPLAN-MEYER DOS GRUPOS CECG E CECN.	89

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - COMPLEXO DE ESPÉCIE DE <i>Cryptococcus</i> spp. INFECTANTE POR GRUPO.....	54
GRÁFICO 2 - FREQUÊNCIA DE MENINGITE CRIPTOCÓCICA POR ANO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO.	55
GRÁFICO 3 - FREQUÊNCIA DE MENINGITE CRIPTOCÓCICA POR ANO, DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.....	56
GRÁFICO 4 - PRESSÃO DE ABERTURA, EM mmH ₂ O NO LCR DA ADMISSÃO NOS GRUPOS HIV+, IC E ID.....	69
GRÁFICO 5 - DISPERSÃO DA CONTAGEM CITOLÓGICA ENCONTRADA NO LCR DE ADMISSÃO DOS PACIENTES NOS GRUPOS HIV+, ID E IC.....	70
GRÁFICO 6 - DISPERSÃO DA CONTAGEM CITOLÓGICA DIFERENCIAL ENCONTRADA NO LCR DE ADMISSÃO DOS PACIENTES NOS GRUPOS HIV+, ID E IC.....	71
GRÁFICO 7 - PROTEÍNA NO LCR DE ADMISSÃO DOS PACIENTES NOS GRUPOS HIV+, ID E IC.....	72
GRÁFICO 8 - PRESSÃO DE ABERTURA, EM mmH ₂ O NO LCR DA ADMISSÃO NOS GRUPOS CECG E CECN.....	75
GRÁFICO 9 - DISPERSÃO DA CONTAGEM CITOLÓGICA ENCONTRADA NO LCR DE ADMISSÃO DOS PACIENTES NOS GRUPOS CECG E CECN.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS - Síndrome da imunodeficiência adquirida
AST - Aspartato aminotransferase
ALT - Alanina aminotransferase
BHI - *Brain-Heart infusion*
CBG - Canavanina glicina azul de Bromotimol
CE - Complexo de espécies
CHC – Complexo Hospital de Clínicas
DM - Diabetes melitus
DPOC - Doença pulmonar obstrutiva crônica
EUA - Estados Unidos da América
GGT - Gama glutamil transpeptidase
GIS - Sistemas de Informação Geográfica
HAART – *highly active antirretroviral therapy*
HAS - Hipertensão arterial sistêmica
HIV - Vírus da imunodeficiência humana
HIV+ - Soropositivo para HIV
IC – Paciente com sorologia negativa para HIV e sem outras causas de imunodepressão identificadas
ID - Imunodeprimido com sorologia negativa para HIV
IFN- γ - Interferon-gama
IL - Interleucina
IMC - Índice de massa corpórea
LCR - Líquido Cefalorraquidiano
NK – célula *Natural killer*
SIRI - Síndrome inflamatória da reconstituição imune
TAP - Tempo de protrombina ativada
TNF - Fator de necrose tumoral
TS - Tempo de sangramento
TTPA - Tempo de tromboplastina parcialmente ativada
UFPR - Universidade Federal do Paraná

SUMÁRIO

1. Introdução	21
1.1. O fungo	21
1.1.1. História e taxonomia	21
1.1.2. Ciclo de vida.....	23
1.1.3. Morfologia e Virulência	24
1.1.4. Distribuição	26
1.2. A infecção	28
1.2.1. Epidemiologia	28
1.2.2. Contágio	30
1.2.3. Criptococose pulmonar.....	31
1.2.4. A infecção do sistema nervoso central	32
1.2.5. Apresentação clínica.....	33
1.2.6. O líquido cefalorraquidiano.....	35
1.2.7. Imagem	36
1.2.8. Diagnóstico.....	37
1.2.9. Tratamento.....	39
1.2.10. Fatores relacionados ao prognóstico	40
1.2.11. Mortalidade	42
2. Justificativa	44
3. Hipótese	45
4. Objetivos.....	46
4.1. Objetivo geral.....	46
4.2. Objetivo específico.....	46
5. Metodologia	47
5.1. Avaliação micológica:.....	47
5.2. Características epidemiológicas:.....	47
5.2.1. Geoprocessamento descritivo:.....	48
5.3. Avaliação imunológica:	48
5.4. Classificação em grupos:.....	49
5.5. Características imunológicas e da doença de base:.....	49
5.6. Características clínicas de apresentação e evolutivas:	50

5.7. Características físicas, citoquímicas e micológicas do LCR:.....	51
5.8. Métodos estatísticos:	51
5.9. Casuística:	52
6. Resultados.....	54
6.1. Epidemiologia	54
6.1.1. Sexo	56
6.1.2. Idade	56
6.1.3. Geoprocessamento descritivo.....	57
6.2. Particularidades dos grupos, de acordo com o estado imunológico.....	59
6.2.1. Pacientes HIV positivos (grupo HIV+).....	59
6.2.2. Pacientes HIV negativos imunodeprimidos por outras causas (grupo ID)	61
6.2.3. Pacientes HIV negativos sem outras causas de imunodepressão identificadas (grupo IC).....	61
6.3. Quadro clínico.....	62
6.4. Avaliação micológica em outros sítios	64
6.5. Avaliação de neuroimagem na admissão	65
6.6. LCR de admissão	66
6.6.1. LCR de admissão: análise de acordo com o estado imunológico	67
6.6.1.1 Características físicas e citoquímicas.....	67
6.6.1.2 Características micológicas.....	72
6.6.2. LCR de admissão: análise de acordo com o complexo de espécies infectante.....	73
6.6.2.1 Características físicas e citoquímicas.....	73
6.6.2.2 Características micológicas.....	76
6.7. LCR do desfecho.....	76
6.7.1. LCR do desfecho: análise de acordo com o estado imunológico.....	77
6.7.1.1 Características físicas e citoquímicas.....	77
6.7.1.2 Características micológicas.....	78
6.7.2. LCR do desfecho: análise de acordo com o complexo de espécies	82
6.7.2.1 Características físicas e citoquímicas.....	82
6.7.2.2 Características micológicas.....	83
6.8. Mortalidade	86
6.9. Outras particularidades dos grupos	95
6.9.1. Hemograma	95

6.9.2. Tratamento.....	97
7. Discussão	99
7.1. Epidemiologia	99
7.1.1. Sexo	100
7.1.2. Idade	101
7.1.3. Geoprocessamento descritivo.....	102
7.2. Particularidades clínicas dos grupos.	106
7.3. O LCR	109
7.3.1. LCR de admissão: análise de acordo com o estado imunológico	109
7.3.1.1 Características físicas e citoquímicas.....	109
7.3.1.2 Características micológicas.....	111
7.3.2. LCR de admissão: análise de acordo com o complexo de espécies.....	112
7.3.2.1 Características físicas e citoquímicas.....	112
7.3.2.2 Características micológicas.....	113
7.3.3. LCR do desfecho: análise de acordo com o estado imunológico.....	113
7.3.3.1 Características físicas e citoquímicas.....	113
7.3.3.2 Características micológicas.....	114
7.3.4. LCR do desfecho: análise de acordo com o complexo de espécies	115
7.3.4.1 Características físicas e citoquímicas.....	115
7.3.4.2 Características micológicas.....	116
7.4. Mortalidade	116
7.5. Outras particularidades dos grupos.	119
7.5.1. Hemograma	119
7.5.2. Tratamento.....	121
7.6. 30 anos de meningite criptocócica no HC-UFPR: considerações finais.....	121
8. Conclusões	124
9. Referências Bibliográficas	125
ANEXO A – Detalhamento das condições de base e drogas imunossupressoras em uso no diagnóstico de meningite criptocócica de cada paciente do grupo ID.	142
ANEXO B – Escolaridade e ocupação, por grupo de acordo com estado imunológico e complexo de espécies.	143
ANEXO C - Detalhamento dos achados clínicos na admissão	145
ANEXO C – Detalhamento dos achados em exames de imagem.	148

ANEXO D – Detalhamento do tratamento antifúngico.....	150
ANEXO E – Detalhamento dos pacientes excluídos por ausência de sorologia conhecida para HIV.....	151
APÊNDICE 1 - Quadros mostrando principais características metodológicas e achados de estudos anteriores avaliando características de LCR em pacientes acometidos por meningite criptocócica.....	152
APÊNDICE 2 – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética.	156
APÊNDICE 3 - Folha de coleta de dados.....	157
APÊNDICE 4 -Resumos publicados em anais de congressos.....	158
4.1 – CONGRESSO MUNDIAL DE NEUROLOGIA, VIENA -2013	158
4.2 – VIII CONGRESSO LATINO AMERICANO DE EPILEPSIA, BUENOS AIRES – 2014	159
4.3 – XXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE NEUROLOGIA, CURITIBA – 2014	160
APÊNDICE 5 – Artigo publicado em periódico	161

1. INTRODUÇÃO

1.1. O fungo

1.1.1. História e taxonomia

Em 1894, o fungo *Cryptococcus* spp foi identificado pela primeira vez por Busse¹, que o isolou a partir de uma lesão tibial em uma paciente alemã (1894, citado por SRIKANTA, SANTIAGO-TIRADO et al, 2014). Mais tarde naquele mesmo ano, Sanfelice², na Itália, isolou o mesmo fungo a partir de suco de pêssego, chamando-o de *Saccharomyces neoformans* devido ao formato singular de sua colônia (1894, citado por SRIKANTA, SANTIAGO-TIRADO et al, 2014). A nomenclatura, no entanto, foi tema de controvérsias e nos anos seguintes o fungo foi chamado também de *Blastomyces neoformans* e *Torula histolytica* (BARNETT, 2010; MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995) até que, em 1901, Jean-Paul Vuillemin cunhou o nome *Cryptococcus neoformans* uma vez que o organismo não é produtor de ascósporos, uma característica definidora do gênero *Saccharomyces* (BARNETT, 2010).

Dentre as 351 espécies de *Cryptococcus* atualmente reconhecidas pelo *Mycobank* (INTERNATIONAL, 2016), dois complexos espécies de *Cryptococcus* se destacam por serem de interesse médico: os complexos de espécies *C. neoformans* e *C. gattii*. Previamente classificados a partir da reação com anticorpos de coelho em sorotipos A, B, C e D (BARNETT, 2010; KWON-CHUNG e VARMA, 2006; SRIKANTA et al., 2014), as espécies incluídas nestes complexos foram reclassificadas diversas vezes, sobretudo ao longo das últimas décadas.

Antes de serem elevadas a categoria de espécies, *C. neoformans* e *C. gattii* eram reconhecidos como *C. neoformans* var. *neoformans*, *C. neoformans* var. *grubii* e *C. neoformans* var. *gatti* (KWON-CHUNG et al., 2014).

Essas espécies também já foram classificadas como duas espécies anamórficas, *C. neoformans* e *C. bacillisporus* e como espécies de acordo com nomes

¹ - Busse, O. Über parasitäre zelleinschlüsse und ihre züchtung. Zentralbl. Bakteriol., v.16, p.175–180. 1894.

² Sanfelice, F. Contributo alla morfologia e biologia dei bastomiceti che si sviluppano nei succhi di alcuni frutti. Ann. Igien., v4, p.463-495. 1894.

teleomórficos, *Filobasidiella neoformans* e *F. bacillispora* (KWON-CHUNG, 1975, 1976; KWON-CHUNG KJ, B. J., THEODORE, TS, 1978).

Em 2002 foram classificadas nas espécies *C. neoformans* e *C. gattii* (KWON-CHUNG KJ et al., 2002). Essa classificação foi sustentada por técnica de DNA *fingerprint* (LATOUCHE et al., 2003) e pelo uso já estabelecido na literatura médica dos termos “*Cryptococcus*”, “*neoformans*” e “*gattii*” (KWON-CHUNG KJ et al., 2002).

Além disso, estudos utilizando técnicas de *PCR-fingerprint* (MEYER et al., 1999), análise de polimorfismos no comprimento de fragmentos amplificados (AFLP) (BOEKHOUT et al., 2001), análise da orotidina monofosfato pirofosforilase (URA5) (MEYER et al., 2003) e genes da fosfolipase (PLB1) através de análise de polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição (RFLP) foram determinantes para a classificação das cepas destas espécies em 8 tipos moleculares: VNI e VNII (*C. neoformans* var *grubii*, sorotipo A) VNIII (híbrido, sorotipo AD), VNIV (*C. neoformans* var. *neoformans*, sorotipo D) e VGI, VGII, VGIII e VGIV (todos correspondendo ao *C. gattii*, sorotipos B e C) (KATSU et al., 2004).

No ano de 2009 sugeriu-se que alguns tipos moleculares de *C. gattii* também fossem elevados a variedades (NGAMSKULRUNGROJ et al., 2009). Nos anos seguintes, estudos baseados na análise filogenética destes fungos sugeriu uma variabilidade genética significativa o suficiente para elevar algumas variedades e genótipos à categoria de espécies (QUADRO 1) (HAGEN et al., 2015; LIU et al., 2015).

Atualmente as sete espécies e seus híbridos derivadas do *C. neoformans* e do *C. gattii* originais são coletivamente chamadas de complexo de espécies (CE) *C. neoformans* e complexo de espécies *C. gattii*, respectivamente (HAGEN et al., 2015).

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO DAS PRINCIPAIS ESPÉCIES DE *Cryptococcus* spp. DE INTERESSE MÉDICO.

Espécies propostas em 1999-2006	Sorotipos	Genótipos (MEYER et al., 2003)	Espécies propostas em 2015 (HAGEN et al., 2015)
<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>grubii</i> (FRANZOT et al., 1999)	A	VNI VNII	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> (FRANZOT et al., 1999)	D	VNIV	<i>Cryptococcus deneoformans</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i> intervariedade híbrida	AD	VNIII	Híbrido <i>Cryptococcus neoformans</i> x <i>Cryptococcus deneoformans</i>
<i>Cryptococcus gattii</i> (KWON-CHUNG KJ et al., 2002)	B e C	VGI VGII VGIII VGIV VGIV/VGIIIc	<i>Cryptococcus gattii</i> <i>Cryptococcus deuterogattii</i> <i>Cryptococcus bacillisporus</i> <i>Cryptococcus tetragattii</i> <i>Cryptococcus decagattii</i>

1.1.2. Ciclo de vida

Tanto no meio ambiente quanto em hospedeiro humano, a forma mais comumente encontrada é a levedura. Durante a infecção, porém, a propagação do fungo ocorre mais facilmente quando este se encontra na forma de esporos (KOZUBOWSKI e HEITMAN, 2012).

Em seu ciclo de vida, o *Cryptococcus* apresenta crescimento tanto por hifas como por brotamento nas leveduras. A reprodução sexuada contribui para a variabilidade genotípica e é uma fonte de hibridização do *Cryptococcus* spp, podendo aumentar sua virulência e resistência (KOZUBOWSKI e HEITMAN, 2012).

Durante o ciclo vegetativo, sua forma mais prevalente é de levedura unicelular que se reproduz por divisão mitótica e brotamento; a forma vegetativa alternativa é a pseudohifa, que permanece ligada à levedura após a mitose, constitui uma forma intermediária entre a levedura e a verdadeira hifa e pode representar uma estratégia para evitar predadores naturais (KOZUBOWSKI e HEITMAN, 2012; NEILSON et al., 1978).

O ciclo sexuada do *Cryptococcus* spp. ocorre por meio de feromônios e resulta no crescimento por hifas. Durante este processo, duas leveduras se fundem mas os núcleos parentais podem permanecer inicialmente separados, originando uma hifa dicariótica, um marco dos basidiomicetos (KOZUBOWSKI e HEITMAN, 2012). A

última forma da reprodução sexuada do *Cryptococcus* spp. ocorre em uma célula chamada basídio, em que ocorre a fusão dos núcleos parentais e a meiose. Os produtos nucleares meióticos sofrem várias mitoses e então são empacotadas em esporos que brotam da superfície apical do basídio e formam 4 cadeias de esporos, uma característica que distingue o gênero *Filobasidiella* de outros membros do *Basidiomycota* (KOZUBOWSKI e HEITMAN, 2012). Com a germinação, os esporos se desenvolvem em leveduras, concluindo o ciclo sexuado.

Em adição ao acasalamento entre leveduras de sexo oposto, o CE *Cryptococcus* neoformans também pode se reproduzir pelo acasalamento dentro do mesmo sexo, através do que se chama de frutificação haplóide ou monocariótica (LIN et al., 2005; WICKES et al., 1996) que foi originalmente descrito por Erke em 1976 (ERKE, 1976; IDNURM et al., 2005; KOZUBOWSKI e HEITMAN, 2012).

1.1.3. Morfologia e Virulência

O *Cryptococcus* spp. tem três fatores bem estabelecidos de virulência: cápsula, melanina e a habilidade de crescer na temperatura corporal humana (IDNURM et al., 2005).

A parede celular do *Cryptococcus* inclui glicanos, quitina, proteínas glicosiladas e melanina e é constituída por uma estrutura de duas camadas: a camada interna com fibras arranjadas paralelamente à membrana plasmática e a camada externa (DOERING, 2009). Embora primordial para prover força, rigidez, defesa contra lise osmótica e regulação da permeabilidade ao mesmo tempo que é flexível e dinâmica o suficiente para permitir a reprodução e outras interações celulares e com o ambiente, a parede celular pode ser um ponto fraco na patogênese do fungo já que não há uma estrutura análoga nas células mamíferas (DOERING, 2009).

A melanina encontrada na parede celular parece proteger o CE *C. neoformans* da radiação ultravioleta do meio ambiente (IDNURM et al., 2005); aumentando a resistência do fungo no meio externo ao hospedeiro. Durante a infecção, a melanina pode ser formada a partir da oxidação das catecolaminas cerebrais do hospedeiro (NOSANCHUK et al., 2000) e protege o fungo dos radicais livres tóxicos produzidos pelo sistema imune (CASADEVALL et al., 2000; IDNURM et al., 2005).

Circundando a parede celular encontra-se a cápsula polissacarídea, composta de cerca de 88% de glucuronoxilomanana e 10% de galactoxilomanana (IDNURM et al., 2005; O'MEARA e ALSPAUGH, 2012; ZARAGOZA et al., 2009). Esta estrutura forma uma barreira física que interfere na fagocitose e na eliminação do fungo pelo sistema imune. A síntese da cápsula é induzida pela limitação de ferro e níveis fisiológicos de CO₂ (GRANGER et al., 1985; IDNURM et al., 2005; VARTIVARIAN et al., 1993), é continuamente liberada do fungo e tem muitos efeitos deletérios nas funções imunes celulares do hospedeiro. Os componentes da cápsula induzem a apoptose de macrófagos (VILLENNA et al., 2008), inibem a produção de citocinas próinflamatórias (SIDDIQUI et al., 2006), ativam o complemento (MERSHON-SHIER et al., 2011), podendo gerar sua depleção, interferem na ativação e maturação de células dendríticas (LIPOVSKY et al., 2000; VECCHIARELLI et al., 2003) e reduzem a migração leucocitária para o local da inflamação (BOSE et al., 2003; LIPOVSKY et al., 2000). A cápsula, que é liberada após a fagocitose por macrófagos parece promover sua sobrevivência intracelular (IDNURM et al., 2005). Além disso, observou-se uma alteração importante no tamanho da cápsula celular das leveduras encontradas no cérebro, sugerindo que o fungo é capaz de sintetizar polissacarídeos em vivo para criar novas estruturas capsulares, aumentando sua virulência e resistência a ambientes hostis (CHARLIER et al., 2005).

A cápsula é um elemento muito útil no diagnóstico. Seus componentes podem ser detectados na corrente sanguínea e ela pode ser identificada ao microscópio óptico, uma vez que não é corada pela tinta da China, formando o halo característico do *Cryptococcus* spp.

O CE *C. neoformans* pode crescer na temperatura corporal de mamíferos (37-39°C) (IDNURM et al., 2005), viabilizando a infecção por esse fungo. Isso parece ser coordenado via proteína G e mediado pela proteína Ras, também envolvida na indução da resposta a feromônio durante a reprodução sexuada (VALLIM et al., 2005).

Por fim, o CE *C. neoformans* pode ser encontrado na forma de célula *titan*, com 50 a 100µm de diâmetro, esse tamanho mostrou ser um fator de proteção contra fagocitose (OKAGAKI et al., 2010; ZARAGOZA et al., 2010). Além disso é possível que a presença desta forma celular esteja associada a uma redução da atividade fagocítica local (OKAGAKI e NIELSEN). A produção desta forma celular variou de acordo com o tamanho do inóculo, sendo maior em inóculos menores (OKAGAKI et

al., 2010), e de acordo com o tempo, pois foi observado entre as células mais antigas de culturas prolongadas *in vitro* (ZARAGOZA et al., 2010). *In vitro*, as células *titan* mostraram-se metabolicamente ativas e capazes de realizar o brotamento de novas leveduras (ZARAGOZA et al., 2010).

1.1.4. Distribuição

Tradicionalmente, dizia-se que o CE *C. neoformans* apresenta distribuição global em solo contaminado por detritos de pombos e o complexo de espécies *C.gattii* é mais encontrado em regiões tropicais e subtropicais em áreas povoadas por *Eucalyptus* spp (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995; VOELZ e MAY, 2010). No entanto, este dogma foi quebrado nas últimas décadas (COGLIATI, 2013; KIDD et al., 2007; KOHL et al., 1985).

Emmons foi o primeiro a isolar o CE *C. neoformans* de amostras de solo, em 1951 (EMMONS, 1951); e quatro anos mais tarde, de excretas de pombos (EMMONS, 1955).

Embora o CE *C. neoformans* seja comumente encontrado como saprófito na excreta de pombo (RUIZ et al., 1981), a ave não é um carreador usual do *Cryptococcus* spp., conforme demonstrado por Khan *et al* (1978), ao encontrar uma proporção bem menor de culturas positivas em swabs e amostras do tubo digestório e fezes frescas de pombos e do que em culturas de fezes secas ou do ar ambiente do habitat de pombos.(KHAN et al., 1978) Observou-se também que quanto maior o tempo de incubação do *Cryptococcus* spp. em um solo seco e estéril, menor o tamanho das células criptocócicas, o que provavelmente aumenta a probabilidade de aerolização e infecção pulmonary (NEILSON et al., 1977).

Paralelamente, outros pesquisadores isolaram o fungo em ambientes secos com poeira. No Brasil, um estudo encontrou 21,4% das amostras de poeira de livros em uma biblioteca positivas para cultura de *Cryptococcus* spp. (LEITE et al., 2012). As espécies mais frequentemente isoladas neste estudo foram *C. gattii* (36,6%), *C. terreus* (29,3%), *C. luteolus* (9,8%) e *C. neoformans* (7,3%) e *C. uniguttulatus* (7,3%) (LEITE et al., 2012). Positividade em culturas semelhante à encontrada por outro grupo brasileiro ao analisar fezes de pombos na cidade de Goiânia –GO, com 20,3% das amostras positivas para *C. neoformans* var. *grubii* (KOBAYASHI et al., 2005).

Ellis e Pfeiffer (1990) foram os pioneiros no estudo dos nichos ecológicos do CE *C. gattii*. Eles isolaram o fungo a partir de *Eucalyptus camaldulensis* australianos cuja localização geográfica correspondia à da distribuição epidemiológica dos casos registrados de criptococose por esta espécie (ELLIS e PFEIFFER, 1990). Na América do Sul, ambas as espécies já foram isoladas a partir de *Eucalyptus*, *Cassia siamea* e *Grevillea robusta* (CATTANA et al.). Além disso, o CE *C. neoformans* já foi encontrado nas árvores *Cassia javanica*, *Caesalpinia peltophoroides*, *Anadenanthera*, *Tabebuia avellanedae* e *Peltophorum dubium* (CATTANA et al.) e o CE *C. gattii* nas árvores *Guettarda acreana* (FORTES et al., 2001), *Terminalla cattapa* (QUINTERO et al., 2005), *Pinus canariensis* (SPRINGER et al., 2014), *Liquidamar styraciflua* (SPRINGER et al., 2014), *Metrosideros excels* (SPRINGER et al., 2014), *Corymbia ficifolia* e *Cephalocereus royenii* (COGLIATI).

No entanto, um estudo realizado na Colúmbia Britânica motivado por um aumento na infecção pelo CE *C. gattii* naquela região isolou o fungo na superfície de outras árvores, solo, ar e água doce e salgada sem encontrar uma sazonalidade em sua prevalência nestes ambientes (KIDD et al., 2007). Este estudo sugeriu que o solo pode ser o principal reservatório do CE *C. gattii* já que o fungo foi mais frequentemente encontrado nos 15cm mais superficiais do solo do que em árvores (KIDD et al., 2007). A acidez, baixa umidade e conteúdo de carbono orgânico do solo parecem favorecer sua colonização pelo CE *C. gattii* provavelmente devido ao menor número de microrganismos competidores nestas condições (KIDD et al., 2007).

Um estudo conduzido na Colômbia avaliou amostras provenientes de fezes de aves, cascas, buracos de árvores e solo próximo a árvores em áreas urbanizadas; das amostras provenientes de plantas, 6,7% foram positivas sendo que 99% destas evidenciaram CE *C. gattii* e 1% *C. neoformans* var. *grubbii* (GRANADOS e CASTANEDA, 2005). O fungo foi mais frequentemente isolado da casca (14,4%) do que do solo (7,5%) ou detritos de buracos de árvores (1,9%) ($p=0.01$) e no grupo de amostra das árvores com buracos ou madeira apodrecida do que na de árvores com ninhos de pássaros ($p=0.001$) (GRANADOS e CASTANEDA, 2005). Entre as amostras cultivadas a partir de fezes de aves, 7,9% foram positivas, todas para *C. neoformans* var. *grubbii*, a positividade foi maior para fezes secas do que para as frescas (14,2% vs. 1,8% $p=0.05$) (GRANADOS e CASTANEDA, 2005). O maior pH observado no excremento de aves em relação às amostras de origem vegetal pode ser um fator

associado à ausência de CE *C. gattii* no excremento de aves mas não o CE *C. neoformans* (GRANADOS e CASTANEDA, 2005).

1.2. A infecção

1.2.1. Epidemiologia

A infecção meníngea por *Cryptococcus* spp. é uma causa bem estabelecida de morbimortalidade entre pacientes acometidos pela AIDS. A cada ano cerca de 957.900 pacientes portadores de HIV recebem o diagnóstico de neurocriptococose e 624.700 morrem após 3 meses de infecção (JARVIS, J. e MEINTJES; PARK et al., 2009). Além disso, frequentemente a meningite criptocócica é a condição definidora de AIDS entre estes pacientes (ALMEIDA et al., 2008). Apesar da melhoria no acesso à terapia antirretroviral e seu impacto positivo na prevenção desta doença, os pacientes soropositivos mantem-se entre os mais acometidos por esta infecção fúngica (CHAN et al., 2014; JARVIS, J. e MEINTJES; LESSELLS et al.; LIZARAZO et al., 2007; MIRZA et al., 2003), contabilizando taxas tão altas quanto 79,4% dos pacientes nos Estados Unidos da América (PYRGOS et al., 2013) e 95% dos pacientes no Rio Grande do Sul, Brasil (LEAL et al., 2008).

Em um estudo realizado em Nova Iorque, EUA que avaliou casos com cultura ou látex positivo para *Cryptococcus* spp. 96,3% dos pacientes eram portadores do HIV (CURRIE e CASADEVALL, 1994). Neste mesmo estudo, a prevalência de criptococose na população HIV+ com $CD4 < 200/mm^3$ foi de 2,5-3,5% quando consideradas apenas as culturas positivas e 6,1 a 8,5% considerando o látex para *Cryptococcus* spp. positivo (CURRIE e CASADEVALL, 1994).

Embora a infecção pelo CE *C. neoformans* seja considerada uma infecção esporádica com distribuição mundial que acomete predominantemente pacientes imunodeprimidos, alguns relatos sugerem que a infecção pelo CE *C. neoformans* em pacientes imunocompetentes tem sido subestimada (LUI et al., 2006; PAPPAS et al., 2001).

Outras formas de imunossupressão também são considerados fatores de risco para meningite criptocócica (LIZARAZO et al., 2007; SATISHCHANDRA et al., 2007). Entre as mais relatadas encontram-se as doenças reumatológicas ou

imunológicas (JONGWUTIWES et al., 2008; LUI et al., 2006; MIRZA et al., 2003; WINGFIELD et al.), diabetes (JONGWUTIWES et al., 2008; KUSHAWAHA et al., 2009; LEE, S. J. et al.; LUI et al., 2006; MIRZA et al., 2003), câncer (JONGWUTIWES et al., 2008; LUI et al., 2006; MIRZA et al., 2003), gravidez (COSTA et al., 2009; ZHENG et al., 2016), doença renal (LEE, S. J. et al.; LUI et al., 2006; MIRZA et al., 2003; NAGOTKAR et al.; QADIR, F. et al., 2006), cirrose hepática (JONGWUTIWES et al., 2008; LEE, S. J. et al.; LUI et al., 2006), transplante de órgãos sólidos e tratamento quimioterápico ou imunossupressor (JONGWUTIWES et al., 2008; LUI et al., 2006; ZHENG et al., 2016). Além disso, o tabagismo também pode ser um fator de risco para infecção pelo CE *C. gattii*, pois foi demonstrado que a ocorrência de tabagismo foi mais frequente entre pacientes afetados por este agente do que na população geral ($p=0,001$) (CHEN, S. C. et al., 2012).

Embora menos frequentes, relatos de pacientes imunocompetentes apresentando infecção meníngea (DORTA-CONTRERAS, 2008; EGHWRUDJAKPOR e ALLISON, 2009; LEE, S. J. et al.; LIZARAZO et al., 2007; LUI et al., 2006) ou de outro sítio (QADIR, I. et al.) por *Cryptococcus* spp., também podem ser encontrados na literatura médica mundial. Um estudo epidemiológico conduzido na Austrália e Nova Zelândia apontou 31% dos casos de criptococose ocorrendo em pacientes imunocompetentes (CHEN, S. et al., 2000).

O CE *C. gattii* foi inicialmente associado a indivíduos imunocompetentes (CHEN, S. C. et al., 2012) residentes em regiões tropicais e subtropicais. No entanto, relatos de casos europeus e em regiões temperadas da Austrália (KOHL et al., 1985) e, mais recentemente, surtos no Canadá (BYRNES et al., 2009; KIDD et al., 2004) e na costa do Pacífico no noroeste dos Estados Unidos da América (BYRNES et al., 2009), mostraram que a distribuição deste fungo é vasta. Além disso, o surto na costa pacífica e Columbia Britânica mostrou que a frequência de infecção pelo CE *C. gattii* em pacientes imunodeprimidos, incluindo HIV+ é mais frequente do que aquela anteriormente pensada (ESPINEL-INGROFF e KIDD, 2015). Nesta ocasião a forma mais comum de infecção por este agente foi a infecção pulmonar (ESPINEL-INGROFF e KIDD, 2015). Entre os pacientes acometidos pelo CE *C. gattii* nos EUA, a presença de condições preexistentes incluindo tabagismo, doenças pulmonares, renais, hepáticas ou cardíacas além de condições imunodepressoras aumentou o risco de pneumonia em relação ao risco de meningite e sintomas associados ao SNC (HARRIS et al., 2011).

Quanto à distribuição por gênero, imunocompetentes ou não, os homens são mais acometidos por este fungo do que as mulheres (LIZARAZO et al., 2007; LUI et al., 2006). As crianças são menos acometidas do que os adultos (LIZARAZO et al., 2007); (GONZALEZ et al., 1996; LIZARAZO, ESCANDON, AGUDELO e CASTANEDA, 2014). E mesmo quando não há diferenças na exposição ao agente, o sítio de infecção mais comum é o sistema nervoso central (LIZARAZO et al., 2007). Entre as mulheres, o diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico ou outras doenças autoimunes foram elencados entre os fatores de risco independentes para meningite criptocócica (ZHENG et al., 2016).

1.2.2. Contágio

Sendo um fungo onipresente, Goldman et al (2001) sugeriu que a maior parte das pessoas são expostas ao *Cryptococcus* spp. já no início da vida ao demonstrar uma reatividade a proteínas criptocócicas maior em criança com mais de 2 anos do que naquelas com idade entre 1 e 2 anos (GOLDMAN et al., 2001).

Numa infecção típica, células desidratadas ou esporos criptocócicos são inalados e se instalam nos alvéolos, onde podem estabelecer uma infecção pulmonar, serem eliminados ou permanecer dormentes por muitos anos (ROY e CHILLER) nos linfonodos hilares ou como granulomas pulmonares (IDNURM et al., 2005). Ocasionalmente, o fungo pode ser reativado e via circulação sanguínea se disseminar até o sistema nervoso central. O CE *C. neoformans* pode ser encontrado no sangue periférico como células livres ou internalizado em células mononucleares como macrófagos, monócitos, ou células endoteliais (CHRETIEN et al., 2002; OLSZEWSKI et al., 2004).

Uma vez no sistema nervoso central, o criptococo frequentemente causa meningite, o que acontece sobretudo em pacientes imunodeprimidos quando o fungo é do complexo de espécies *C. neoformans* e em indivíduos imunocompetentes para o complexo de espécies *C. gattii* (LIZARAZO et al., 2007; SATISHCHANDRA et al., 2007; VOELZ e MAY). Uma vez que o *Cryptococcus* spp. sobrevive e se prolifera após fagocitado (FELDMESSER et al., 2000), o desenvolvimento de uma resposta imune adaptativa é essencial para o combate a este organismo (VOELZ e MAY). Células *Natural Killer* (NK), linfócitos T e citocinas apresentam atividade direta contra

Cryptococcus spp. o que explica a maior predisponência de pacientes com comprometimento deste tipo de imunidade a infecções criptocócicas (VOELZ e MAY). A patogênese é portanto determinada pelo estado imunológico do indivíduo bem como a virulência da cepa e o tamanho do inoculum (VOELZ e MAY). Em pacientes HIV positivos, a infecção criptocócica geralmente ocorre quando a contagem de células CD4+ está menor do que 100 células/ μ L, com medianas tão baixas quanto 9,5 células/ μ L em alguns estudos (LEE, S. J. et al., 2011). Aproximadamente 13% dos pacientes HIV + com CD4 < 100 células apresentam antígenos criptocócico detectáveis e 29% destes acabam por desenvolver meningite por este fungo (ROY e CHILLER; SATISHCHANDRA et al., 2007). Entre os pacientes HIV+, a neurocriptococose comumente é a doença definidora de AIDS (JARVIS, J. N. et al., 2010; JONGWUTIWES et al., 2008).

A preponderância da infecção meníngea sobre outros sítios se dá provavelmente pela ausência de complementos e imunoglobulinas no líquido cefalorraquidiano (SATISHCHANDRA et al., 2007), no entanto, infecção disseminada ou acometimento de pulmões, rim e pele também são descritas (JONGWUTIWES et al., 2008; LIZARAZO et al., 2007; LUI et al., 2006; MIRZA et al., 2003).

1.2.3. Criptococose pulmonar

O pulmão é o sítio primário de infecção pelo *Cryptococcus* spp. e invariavelmente a porta de entrada para a infecção por este fungo (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995). Relatos de pacientes imunocompetentes acometidos por criptococose pulmonar foram descritos (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995) e esta foi a infecção predominante entre os pacientes infectados pelo CE *C. gattii* na epidemia da Colúmbia Britânica, no Canadá entre os anos de 1999 e 2007 (GALANIS et al., 2010). Cerca de 1/3 dos paciente com criptococose pulmonar são assintomáticos (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). Entre os sintomáticos, os sintomas mais frequentes são febre (26%) e tosse (54%) produtiva por vezes com hemoptoicos ou hemoptise (18%) (CAMPBELL, 1966). Além disso os pacientes podem queixar-se de suores noturnos, emagrecimento e fraqueza (CAMPBELL, 1966). A doença frequentemente se apresenta como pneumonia multifocal, segmentar ou lobar com broncograma aéreo (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). A lesão primária, geralmente nodular de características

gelatinosas, pode raramente evoluir para calcificação (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). Nos nódulos gelatinosos em que o *Cryptococcus* spp. apresenta cápsula abundante, a lesão pode evoluir para cavitação, enquanto que naqueles em que a capsula é diminuta, pode ocorrer caseificação (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). A evolução para formas pulmonares graves pode ocorrer sobretudo em pacientes com AIDS, e é clínica e radiologicamente semelhante à pneumonia por *Pneumocystis jiroveci* (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008).

O diagnóstico da forma pulmonar é feito por biópsia e exame histopatológico do nódulo, micológico direto e lavado broncoalveolar e corroborado por exames de imagem e pesquisa do antígeno criptocócico (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008).

A colonização assintomática do sistema respiratório pelo CE *C. neoformans* tem sido descrita sobretudo em pacientes com outra doença pulmonar de base, como a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995). Pacientes assintomáticos e sem alteração pulmonar radiográfica não necessariamente necessitam de tratamento antifúngico, mesmo com o isolamento do fungo no escarro (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995). Entretanto, devido ao neurotropismo do *Cryptococcus* spp., recomenda-se que tanto pacientes com colonização pulmonar assintomática quanto aqueles com pneumonia pelo fungo sejam submetidos a punção lombar, mesmo na ausência de sinais e sintomas neurológicos (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995). A presença do antígeno criptocócico no plasma com titulação $\geq 1:8$ pode significar uma maior carga fúngica no pulmão ou infecção disseminada, nestas situações o tratamento antifúngico deve ser considerado mesmo em pacientes assintomáticos (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995).

1.2.4. A infecção do sistema nervoso central

Em um modelo murinho, após 5 minutos da inoculação endovenosa de fungos do complexo de espécies *C. neoformans*, as leveduras foram visualizadas no lúmen dos vasos, por vezes distorcendo a morfologia dos mesmos (CHARLIER et al., 2005). Após 6 horas, alguns fungos foram encontrados no parênquima cerebral enquanto que às 24 horas do início do experimento a maioria dos fungos visualizados foram localizados neste sítio, principalmente próximos ou dentro dos capilares corticais encefálicos ou

cerebelares (CHARLIER et al., 2005). Poucas leveduras foram visualizados na substância branca e nenhum no plexo coróide (CHARLIER et al., 2005). Após 48 horas da inoculação, os fungos formaram microcistos no parênquima cerebral, com edema local porém sem infiltrados celulares inflamatórios (CHARLIER et al., 2005).

Em um outro experimento, células endoteliais da microvasculatura cerebral foram expostas a leveduras do complexo de espécies *C. neoformans* e após 15 a 30 minutos observou-se a formação de protrusões na membrana celular semelhante a microvilos (CHANG et al., 2004). As células de CE *C. neoformans* cruzaram o endotélio via transcelular, sem afetar a integridade desta camada (CHANG et al., 2004). Neste trabalho, o estudo da histopatologia cerebral de ratos inoculados com CE *C. neoformans* mostrou leveduras associadas a células endoteliais em 3 horas e no parênquima cerebral em 22 horas (CHANG et al., 2004). Nenhum fungo do CE *C. neoformans* foi detectado no plexo coróide nos 10 dias de observação, sugerindo que fungos do CE *C. neoformans* invadem o SNC cruzando a barreira hemato-encefálica via transcelular através do endotélio (CHANG et al., 2004).

1.2.5. Apresentação clínica

A infecção do SNC é a forma mais comum de infecção criptocócica em pacientes HIV+ (JONGWUTIWES et al., 2008; TSENG et al., 2013) e está presente em cerca de 89% de todos os casos de infecções pelo complexo de espécies *C. gattii* (CHEN, S. C. et al., 2012).

Sinais e sintomas de meningite ou meningoencefalite subaguda estão presentes em 70 a 90% (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995) dos pacientes e incluem cefaleia, febre, rebaixamento do nível de consciência além de alterações de personalidade e memória ao longo de semanas a meses (ZARAGOZA et al., 2009). Sintomas constitucionais como perda de peso e sudorese noturna também podem estar presentes (ZARAGOZA et al., 2009). Sinais e sintomas de hipertensão intracraniana são achados comuns na apresentação clínica do paciente com meningite criptocócica (HASIMOTO E SOUZA et al., 2013). Dentre eles, a cefaleia é a queixa mais relatada (CHEN, S. C. et al., 2012; DARZE et al., 1999; HASIMOTO E SOUZA et al., 2013; LEE, S. J. et al., 2011; LUI et al., 2006). Febre e rigidez de nuca também estão frequentemente presentes no quadro clínico inicial (HASIMOTO E SOUZA et al., 2013). Classicamente, a

meningite criptocócica não é associada a déficits neurológicos focais ao diagnóstico e quando presentes em pacientes HIV+, podem indicar a investigação de outras comorbidade (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995).

Entretanto, CHEN, S. C. et al, 2012, relatou a presença de manifestações neurológicas em cerca de 59% dos pacientes com meningite pelo complexo de espécies *C. gattii*, incluindo rebaixamento do nível de consciência, défices focais e convulsões. Embora a hipertensão intracraniana seja comum, a presença de papiledema no diagnóstico nem sempre é, com estudos mostrando incidências de apenas 12% em pacientes afetados pelo complexo de espécies *C. gattii* e 10% em pacientes afetados por *Cryptococcus* spp (CHEN, S. C. et al., 2012; PAPPAS et al., 2001). MITCHELL, D. H. et al, 1995, demonstrou que 33 e 50% dos pacientes HIV negativos afetados por fungos do complexo de espécies *C. neoformans* ou *C. gattii* respectivamente apresentaram papiledema. Este mesmo estudo mostrou incidência de crises epiléticas em 40% dos pacientes do último grupo e em nenhum paciente do primeiro (MITCHELL, D. H. et al., 1995).

A apresentação clínica, resultados de exames complementares e evolução da infecção, no entanto, costumam diferir entre a população com e sem HIV (JONGWUTIWES et al., 2008; LIZARAZO et al., 2007; LUI et al., 2006; MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995). Devido a alta carga fúngica e resposta inflamatória diminuída, pacientes com HIV frequentemente relatam queixas mais recentes ao contrário de alguns pacientes imunocompetentes que podem relatar sintomas há vários meses antes do diagnóstico (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995).

A incidência de criptococose menor na população HIV negativa diminui o índice de suspeição clínica desta doença para este grupo, o que pode retardar gravemente o diagnóstico e tratamento específico. Talvez por isso, estudos observacionais sobre meningite criptocócica em pacientes imunocompetentes ainda sejam escassos, além disso, os sujeitos estudados normalmente são divididos entre grupos de pacientes HIV+ ou HIV negativo, independentemente da presença de outro fator de imunossupressão. O Consenso brasileiro sugere que o manejo destes pacientes seja determinado de acordo com o estado imunológico do hospedeiro (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008; PERFECT et al., 2010).

1.2.6. O líquido cefalorraquidiano

O diagnóstico da meningite criptocócica se dá através do exame micológico direto e da cultura do líquido cefalorraquidiano (LCR) do paciente. A punção lombar deve ser realizada assim que possível e a aferição da pressão de abertura, com o paciente em decúbito lateral, deve ser medida sempre, pois frequentemente é $\geq 200\text{mmHg}$ (CHEN, S. C. et al., 2012; DENNING et al., 1991), indicando a necessidade de punções de alívio (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). Vários mecanismos têm sido sugeridos para explicar o aumento da pressão intracraniana, incluindo prejuízo da drenagem líquórica por acúmulo de leveduras nas vilosidades aracnoídeas (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995). A identificação de maiores cápsulas criptocócicas na amostra de LCR inicial correlacionou-se diretamente com maior pressão intracraniana, maior demora na esterilização do LCR após início do tratamento e menor resposta inflamatória no LCR, incluindo contagem de leucócitos (ROBERTSON et al., 2014). Inversamente, a maior pressão de abertura na punção lombar inicial também mostrou correlação com maior carga fúngica no LCR, a carga fúngica mostrou-se um fator importante, porém não determinante para o desenvolvimento de hipertensão intracraniana (BICANIC et al., 2009).

Tipicamente, em pacientes acometidos por meningite criptocócica, o LCR apresenta pleocitose e linfocitose (SLOAN e PARRIS, 2014). As características citológicas e bioquímicas do LCR de pacientes HIV+ e negativos apresentam algumas diferenças. Pacientes HIV+ apresentam LCR denotando menor reação inflamatória do que nos pacientes HIV negativo (REIS-FILHO et al., 1994). Há tendência a maior citologia (JONGWUTIWES et al., 2008) e proteinorraquia (JONGWUTIWES et al., 2008; LEE, Y. C. et al., 2011; LIAO et al., 2012) em pacientes HIV negativos e tendência a maior glicorraquia em pacientes HIV+ (JONGWUTIWES et al., 2008). O número de criptococos visualizados no exame micológico direto também é diferenciado para os dois grupos de pacientes, sendo maior nos pacientes com AIDS (LEE, S. J. et al., 2011; REIS-FILHO et al., 1994). Por isso, sugeriu-se que um LCR pouco inflamatório com exame micológico direto positivo possa ser um indicativo de infecção por HIV com definição de AIDS (REIS-FILHO et al., 1994).

Nas infecções pelo complexo de espécies *C. gattii* frequentemente observa-se a hiperproteínoorraquia, o valor médio demonstrado em um estudo australiano foi de 88mg/L (CHEN, S. C. et al., 2012).

Embora alguns estudos já tenham abordado diferenças citológicas e bioquímicas entre o LCR de pacientes HIV+ e negativos ou entre pacientes acometidos pelos CE *C. neoformans*/*C. gattii*, a maior parte deles incluiu pacientes com sorologia desconhecida para HIV (CHAN et al., 2014; JONGWUTIWES et al., 2008; LEE, Y. C. et al., 2011; LIAO et al., 2012; LUI et al., 2006; REIS-FILHO et al., 1994; TSENG et al., 2013). Nenhum estudo até o momento avaliou diferenças entre pacientes HIV+, imunodeprimidos por outras causas e imunocompetentes. MITCHELL, D. H. et al., 1995, avaliou a diferença entre pacientes HIV negativos, imunocompetentes acometidos pelo CE *C. neoformans* ou CE *C. gattii*, porém a amostra foi de apenas 31 pacientes. O APÊNDICE 1 apresenta quadros resumindo os principais estudos publicados até o momento avaliando características de LCR dos pacientes acometidos por meningite criptocócica.

1.2.7. Imagem

Os exames de imagem, notadamente tomografia computadorizada (TAC) craniana ou ressonância magnética (RNM) encefálica são de grande auxílio no diagnóstico e manejo dos casos de meningite criptocócica. As principais lesões observadas são as dilatações dos espaços de Virchow-Robin, que podem evoluir para a formação de cistos mucinosos com predileção pelos núcleos da base e regiões periventriculares e sem impregnação pelo meio de contraste (BERKEFELD et al., 1999; CHARLIER et al., 2008; CONSENSO em criptococose: 2008, 2008; CORTI et al., 2008). Entretanto, de acordo com a presença de resposta imune do hospedeiro uma reação granulomatosa crônica pode ser observada, com presença de macrófagos e linfócitos (CORTI et al., 2008). Nestas situações outros padrões de imagem, como o realce meníngeo, endimite, ventriculite, meningite circunscrita ou criptococomas (CORTI et al., 2008) podem ser identificados, frequentemente apresentando realce pelo meio de contraste (BERKEFELD et al., 1999) e ou presença de lactato e lípidos em análise espectroscópica na RNM (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008; CORTI et al., 2008). Outras alterações de imagem incluem atrofia cerebral, leucoencefalopatia

multifocal progressiva, edema difuso, trombose de seio, lacunas isquêmicas, sinais sugestivos vasculites em gânglios da base e hipodensidades e hiperintensidades em T2 inespecíficas (CHARLIER et al., 2008).

Um estudo envolvendo pacientes HIV+ com meningite criptocócica mostrou imagens encefálicas anormais em 92% dos exames de RNM e 53% dos exames de TAC (CHARLIER et al., 2008). As principais lesões encontradas em RNM/TAC foram pseudocistos (8%/4%), lesões do tipo massa (21%/9%) e dilatação do espaço perivascular (46%/5%) (CHARLIER et al., 2008).

Em relação a pacientes afetados pelo CE *C. gattii* as alterações de imagem também são frequentes, sendo encontradas em até 55,5% dos pacientes, porém não foi encontrada relação entre alterações específicas na imagem e alterações neurológicas na apresentação (CHEN, S. C. et al., 2012).

Um estudo australiano demonstrou que entre pacientes imunocompetentes, a ocorrência de lesões cerebrais e pulmonares do tipo massa e hidrocefalia eram mais frequentes entre os pacientes acometidos por meningite pelo complexo de espécies *C. gattii* do que pelo complexo de espécies *C. neoformans* (MITCHELL, D. H. et al., 1995).

As alterações em imagem cerebral mais comuns em um estudo conduzido em Taiwan foram hidrocefalia, lesões hipodensas e realce meníngeo (LIAO et al., 2012). Não houve diferença estatisticamente significativa entre pacientes HIV+ e negativos, porém a maior parte dos pacientes HIV negativos incluídos neste estudo apresentavam outros fatores de imunossupressão (LIAO et al., 2012). Outras diferenças de imagem estatisticamente significativas entre pacientes HIV+ e negativos incluem maior quantidade de achados sugestivos de isquemia cerebral em pacientes HIV negativos e maior proporção de imagens normais naqueles HIV+ (LEE, Y. C. et al., 2011).

Após o tratamento, as lesões podem perder o realce pelo contraste e tomarem um padrão cístico com calcificações (BERKEFELD et al., 1999).

1.2.8. Diagnóstico

A observação direta da levedura tem alta sensibilidade e pode ser realizada em diversas amostras, incluindo LCR, escarro, lavado brônquico, pus, urina, aspirados de medula óssea e de linfonodos e fragmentos de tecidos (CONSENSO em criptococose:

2008, 2008). No LCR a observação direta (micológico direto), é facilitada pela coloração com nigrosina (tinta da China), sobretudo após centrifugação por 10 minutos e é positiva quando há 10^3 a 10^4 UFC/ml (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). No LCR a sensibilidade do micológico direto é maior para pacientes HIV+ (JONGWUTIWES et al., 2008), em torno de 80% para pacientes com AIDS e de cerca de 50% para os pacientes HIV negativos (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008).

O exame comprobatório da doença é a cultura em ágar-sangue, ágar-Sabouraud, ágar-Niger, ou ágar-*Brain-Heart infusion* (BHI), que deve ser mantida preferencialmente sob a temperatura de 30°C (25-37 °C) (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008; COOPER, 1980). As colônias mucóides de tonalidade creme característica podem ser observadas a partir de 48 horas de incubação, com sensibilidade de 95-100% para pacientes com AIDS e cerca de 89% para pacientes HIV negativos (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). Quando cultivados no meio de Canavanina glicina azul de bromotimol (CBG), o CE *C. gattii* adquire coloração azulada e o CE *C. neoformans*, amarelo claro, permitindo a diferenciação fenotípica entre as duas espécies (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008; KLEIN et al., 2009).

No teste de aglutinação de partículas de látex, o antígeno capsular polissacarídeo do *Cryptococcus* spp. pode ser detectado no sangue, urina, lavado brônquico alveolar e LCR (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). No LCR, a sensibilidade é de 95% e especificidade de 98%, sendo que títulos de até 1:4 sugerem infecção e $\geq 1:8$ sugerem doença em atividade (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). Um estudo estimou que 87% dos pacientes com teste de aglutinação de partículas de látex positivo para *Cryptococcus* spp. estudados tinham meningite por este fungo (CURRIE e CASADEVALL, 1994). Titulação $>1:1024$ indica alta carga fúngica ou déficit imunitário, a persistência de alta titulação ($>1:512$) após 2 semanas de tratamento pode ser um indicativo de dificuldade na resposta terapêutica (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). A alta carga fúngica no LCR é encontrada mais frequentemente em pacientes HIV+ do que naqueles HIV negativos (JONGWUTIWES et al., 2008; MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995). Foi sugerido que pacientes infectados pelo CE *C. gattii* com titulações sérica ≥ 512 sejam submetidos a punção lombar e imagem cerebral, já que tais valores foram associados a meningite (CHEN, S. C. et al., 2012). Uma reação cruzada com fator reumatóide, o fungo *Trichosporon* spp.

ou quando há contaminação da amostra podem levar a um resultado falso positivo (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008).

A realização do teste de ELISA, disponível tanto para a detecção de antígenos quanto de anticorpos, também pode ser utilizada, no entanto é mais demorado e laborioso que os demais (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). Além disso, a presença de anticorpos pode ser mais tardia ou aparecer durante o tratamento e recuperação (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008).

Outro teste diagnóstico disponível é o teste rápido imunocromatográfico (Lateral Flow Assay), desenvolvido em 2009, apresenta alta sensibilidade e especificidade tanto no sangue quanto no LCR (HUANG et al., 2015; VIJAYAN et al., 2013).

1.2.9. Tratamento

De acordo com o consenso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, o tratamento da neurocriptococose pode ser dividido em fases de indução, consolidação e, nos casos dos pacientes imunodeprimidos, manutenção. A fase de indução tem por objetivo a redução da carga fúngica e duração mínima de 2 semanas, e consiste da associação de anfotericina B com 5-fluocitosina (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). A fase de consolidação deve ser iniciada após evidência de melhora clínica definida por melhora do estado mental, febre, cefaleia, sinais meníngeos e ou negatificação do LCR após a 2ª. Semana (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). O antifúngico de escolha nesta fase é o fluconazol na dose de 400mg ao dia por 10 semanas para pacientes imunodeprimidos e 6 a 10 semanas para pacientes sem imunossupressão (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). O fluconazol deve ser mantido na dose de 200 a 400mg ao dia ou itraconazol 200mg ao dia por 12 a 24 meses para pacientes imunodeprimidos, na chamada fase de manutenção (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). O fluconazol deverá ser suspenso se a contagem de células CD4+ se mantiver acima de 100 a 200 células/mm³ por 6 meses e reiniciada se a contagem for inferior a 100 células/mm³ (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008).

Os principais antifúngicos usados para o tratamento da neurocriptococose no Brasil são a anfotericina B e o fluconazol, uma vez que a 5-fluocitosina não é de fácil acesso para boa parte dos pacientes (REICHERT-LIMA et al., 2016). Nos casos em que

a 5-fluocitosina não está disponível, o tratamento é realizado com anfotericina B ou suas formulações lipídicas podem ser mantidas por 6 a 10 semanas (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008). Para os pacientes imunodeprimidos, uma outra opção terapêutica é o fluconazol 1600 a 2000mg ao dia por 6 a 10 semanas (CONSENSO em criptococose: 2008, 2008).

Pequenas variações no tratamento, entretanto, podem ser encontradas de acordo com os consensos ou guidelines escolhidos pelo médico assistente.

1.2.10. Fatores relacionados ao prognóstico

A presença de alta carga fúngica na apresentação, avaliada pelo número de leveduras observadas no exame micológico direto (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995) e alta titulação de antígeno criptocócico no sêrum ou maior quantidade de unidades formadoras de colônias (JARVIS, J. N. et al., 2014), mostrou-se um fator de mau prognóstico (DIAMOND e BENNETT, 1974; MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995), e pode estar associado a dificuldade de controle da infecção ou a um maior risco de recorrência (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995). Em um estudo envolvendo exclusivamente pacientes infectados pelo CE *C. gattii* a presença de antígeno criptocócico no LCR com titulação $\geq 1:256$ foi preditor de óbito ou sequela neurológica (CHEN, S. C. et al., 2012).

A alteração do estado mental é descrita como um fator de mal prognóstico entre pacientes com meningite criptocócica (DARZE et al., 1999; HASIMOTO E SOUZA et al., 2013; JARVIS, J. N. et al., 2014; LEE, Y. C. et al., 2011; MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995; SEATON et al., 1996). Outros fatores clínicos relacionados a mau prognóstico incluem baixo peso corporal (JARVIS, J. N. et al., 2014), desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica (SEATON et al., 1996), novas neuropatias cranianas (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995), deterioro do estado mental (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995), história de convulsão antes do diagnóstico (SEATON et al., 1996) ou recorrência da cefaleia durante o período de tratamento (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995). Entre os fatores laboratoriais, a leucocitose sérica (JARVIS, J. N. et al., 2014), hemoglobina $< 7,5\text{g/dL}$ (JARVIS, J. N. et al., 2014) e a demora na esterilização do LCR (JARVIS, J. N. et al., 2014) se associaram a maior mortalidade.

BOULWARE et al, 2010, demonstrou uma maior chance de desenvolvimento de síndrome inflamatória da reconstituição imune (SIRI) para pacientes com HIV sem tratamento antirretroviral prévio, que apresentaram diminuição da resposta inflamatória no LCR. Especificamente, uma contagem celular ≤ 25 células/ μ L e proteica ≤ 50 mg/dL no LCR foram associadas ao desenvolvimento de SIRI ($p < 0.001$) (BOULWARE et al., 2010). Os pacientes que desenvolveram SIRI também apresentaram menor quantidade de interferon-gama (IFN- γ), interleucina (IL)-6, IL-8 e fator de necrose tumoral alpha (TNF- α) (BOULWARE et al., 2010).

A pressão de abertura aferida na punção lombar inicial mostrou correlação com a carga fúngica mas não com a contagem de células CD4+, citocinas pró-inflamatórias do LCR ou alteração do estado mental (BICANIC et al., 2009). O predomínio linfocítico no LCR e a presença de cefaleia na admissão, contudo, foram fatores protetores (LEE, Y. C. et al., 2011). Por outro lado, a alteração do estado mental e envolvimento extraneural foram fatores de risco independentes para mortalidade em 30 dias (LEE, Y. C. et al., 2011). A pressão de abertura basal não se correlacionou com a mortalidade (BICANIC et al., 2009; SEATON et al., 1996). Um estudo conduzido na França mostrou um risco relativo de 3,1 ($P=0,03$) e 3,7 ($P=0,009$) para pacientes com AIDS acima de 30 anos e com glicorraquia inicial < 2 mmol/L, respectivamente (DARRAS-JOLY et al., 1996).

A presença de lesões evidenciadas por RNM ou TAC encefálicas foi associada a maiores títulos séricos (78% vs. 42%, $p=0,008$) e no LCR (81 vs. 50%, $p=0,024$) de antígenos criptocócicos, independentemente de anormalidades neurológicas (CHARLIER et al., 2008). A presença de imagem cerebral normal foi fator protetor, tanto na análise multivariada quanto na univariada (LEE, Y. C. et al., 2011). Em um estudo com pacientes que receberam transplante de órgão sólido, o título do antígeno criptocócico não se correlacionou com mortalidade (SINGH et al., 2008). Em um estudo com pacientes que receberam transplante de órgão sólido, a mortalidade foi de 50% para os pacientes com lesões parenquimatosas e 31% para pacientes com qualquer lesão no diagnóstico (SINGH et al., 2008).

A deficiência da resposta imunológica, por si só, também se mostrou um fator associado a maior mortalidade entre pacientes infectados por fungos do complexo de espécies *C. gattii* (CHEN, S. C. et al., 2012).

Além disso, pacientes HIV+ apresentam maior taxa de recorrência da meningite criptocócica em relação aos HIV negativos ($P=0.011$) (JONGWUTIWES et al., 2008). Em uma análise multivariada, a contagem inicial de $CD4 \leq 20mm^3$ foi um indicador de morte ou recorrência em pacientes HIV+ (LIAO et al., 2012). O acesso a TARV também tem associação com mortalidade, um estudo espanhol mostrou mortalidade de 15% para pacientes em TARV e 85% naqueles que não estavam em tratamento ($p=0,002$) (CABELLO UBEDA et al., 2016).

Entre os pacientes com meningite criptocócica HIV negativos, com ou sem outros fatores de imunossupressão, a falência de órgãos, a presença de malignidade hematológica, o sexo masculino, a ausência de cefaleia e a alteração do estado mental na apresentação influenciaram a mortalidade ($p<0,05$) (PAPPAS et al., 2001). O antígeno criptocócico no LCR com titulação $\geq 1:512$ ($P=0,020$) e a cirrose hepática ($P=0,014$) se mostraram fatores de risco independentes para mortalidade em 10 semanas em uma análise multivariada (TSENG et al., 2013).

1.2.11. Mortalidade

Estima-se que a mortalidade entre pacientes HIV positivos após 10 semanas de infecção seja de 9% nos países desenvolvidos, 55% nos menos desenvolvidos e de até 70% na África sub-saariana (ROY e CHILLER), região com a maior incidência de casos (PARK et al., 2009). Estudos conduzidos no Brasil relataram mortalidade geral de 42,7% a 51,8% (DARZE et al., 1999; HASIMOTO E SOUZA et al., 2013; LEIMANN e KOIFMAN, 2008). Ao separar pacientes HIV+ daqueles negativos, um estudo encontrou mortalidade de 51% e 41,2%, respectivamente (LINDENBERG ADE et al., 2008). Entre os estudos epidemiológicos mais recentes a taxa de mortalidade para pacientes imunocompetentes foi de 25% (LUI et al., 2006), e para HIV negativos em geral de 11% a 22% (JARVIS, J. N. et al., 2014; JONGWUTIWES et al., 2008; LEE, S. J. et al.; MIRZA et al., 2003). Alguns estudos, entretanto, não encontraram diferença na mortalidade entre pacientes com e sem infecção pelo HIV (JONGWUTIWES et al., 2008; LEE, Y. C. et al., 2011). Inversamente, outro estudo encontrou uma taxa de mortalidade menor para pacientes HIV negativos (31% x 5,3% em 90 dias) que apresentavam outras formas de imunossupressão, como uso de corticoides, doença autoimune e transplante de órgão sólido (LIAO et al., 2012).

Por outro lado, em um estudo envolvendo exclusivamente pacientes acometidos pelo CE *C. gattii* a mortalidade foi de 17%, sendo significativamente maior para pacientes imunocomprometidos (29%) do que para aqueles imunocompetentes (5%, $p=0,002$) (CHEN, S. C. et al., 2012). A mortalidade hospitalar dos pacientes norte americanos com neurocriptococose, independentemente de seu estado imunológico foi de 12,4% para mulheres e 10,8% para homens (PYRGOS et al., 2013). A mortalidade após 1 ano de diagnóstico foi de 41% em um dos estudos (JARVIS, J. N. et al., 2014).

A alta mortalidade desta afecção costuma ser atribuída ao diagnóstico tardio e dificuldade de tratamento (LIZARAZO et al., 2007). Por outro lado outros agravos relacionados ao HIV que não a infecção fúngica são também apontados como importantes contribuintes para a mortalidade, em especial aquelas após as duas primeiras semanas de diagnóstico e em ambientes de recursos limitados (HARRISON, 2009).

Um estudo envolvendo apenas pacientes HIV negativos acometidos pelo CE *C. gattii* relatou que na maior parte das mortes documentadas, os pacientes foram a óbito após coma e parada cardiorrespiratória (SEATON et al., 1996). O tempo médio entre admissão e morte neste estudo foi de 8 dias (variação 1-110 dias) (SEATON et al., 1996).

A neurocriptococose é uma afecção grave e potencialmente fatal. Em um estudo realizado no Brasil, dentre as etiologias de infecções meníngeas, a infecção fúngica figurou entre as mais letais e dentre as infecções fúngicas o *Cryptococcus* spp. foi o mais frequente (MARCHIORI et al., 2011).

2. JUSTIFICATIVA

O melhor conhecimento da epidemiologia, diferenças na apresentação e evolução da neurocriptococose em pacientes de diferentes estados imunológicos ou acometidos por diferentes complexos de espécies auxilia na construção de conhecimento sobre esta doença, contribuindo para o diagnóstico e terapêutica mais precoces e efetivas e portanto aumentando as chances de um melhor desfecho.

A melhor compreensão das informações fornecidas pela análise do líquido cefalorraquidiano pode auxiliar no diagnóstico e determinação da gravidade de acometimento. Estes dados podem ainda ser úteis na futura identificação de outros fatores de risco ou de possíveis fatores preditivos de desfecho para cada grupo.

Até o momento, nenhum outro estudo comparou pacientes HIV+ com pacientes HIV negativos imunodeprimidos por outras causas e HIV negativos imunocompetentes. Os poucos estudos comparativos entre pacientes com meningite criptocócica acometidos por diferentes complexos de espécies tinham uma amostra menor e eram metodologicamente menos rigorosos ao não especificarem a exclusão de pacientes com sorologia desconhecida para HIV. Além disso, nenhum estudo avaliou as características físicas, químicas e citológicas do LCR dos pacientes de acordo com o estado imunológico do hospedeiro e de acordo com o complexo de espécies infectante. Assim, um estudo observacional mais aprofundado nestes grupos específicos é uma abordagem pouco explorada e pode dar origem a novas hipóteses a serem estudadas.

3. HIPÓTESE

O estado imunológico do hospedeiro e o complexo de espécies infectante determinam diferenças epidemiológicas, clínicas, físicas, químicas, citológicas e micológicas de LCR e diferenças de mortalidade entre pacientes acometidos por meningite criptocócica.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Reconhecer diferenças epidemiológicas, clínicas e laboratoriais entre pacientes com meningite criptocócica de acordo com o complexo de espécies de *Cryptococcus* spp. infectante e de acordo com o estado imunológico do paciente.

4.2. Objetivo específico

3.2.1. Determinar a frequência de pacientes HIV+, imunodeprimidos HIV- (ID) e imunocompetentes (IC) com meningite por *Cryptococcus* spp e a frequência de pacientes acometidos pelos complexo de espécie *C. neoformans* e CE *C. gattii*.

3.2.2. Estudar as características epidemiológicas destes grupos.

3.2.3. Estudar as características físicas, citoquímicas, citológicas e micológicas do LCR inicial e de desfecho nos grupos de acordo com o estado imunológico do paciente e de acordo com o complexo de espécies infectante, comparando-as entre os grupos.

3.2.4. Estudar a mortalidade de acordo com estado imunológico, complexo de espécies infectante, características clínicas iniciais e de acordo com a análise física, citoquímica e micológica do LCR de admissão e de desfecho.

5. METODOLOGIA

Estudo retrospectivo utilizando dados clínicos, radiológicos e laboratoriais de pacientes com cultura positiva no LCR para *Cryptococcus* spp durante o período de 28/09/1983 a 05/08/2013 identificados no arquivo da Seção de micologia do setor de análises clínicas do CHC-UFPR.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do CHC-UFPR (Parecer número 24456, CAAE: 01806312.7.0000.0096) (APÊNDICE 2).

5.1. Avaliação micológica:

Todos os pacientes com cultura para *Cryptococcus* spp. isolado a partir do LCR nos meios de cultura ágar Sabouraud, ágar Niger e ágar BHI e com registro no CHC-UFPR foram incluídos.

O complexo de espécies *C. neoformans*/*C. gattii* de cada paciente foi determinada pela cultura em Canavanina glicina azul de Bromotimol (CBG) (KWON-CHUNG et al., 1982), e registrados do arquivo da Seção de micologia do setor de análises clínicas do HC-UFPR.

Os resultados dos exames micológico direto e látex para antígeno capsular do *Cryptococcus* spp. destes pacientes foram registrados a partir de seus prontuários.

5.2. Características epidemiológicas:

Foram coletados dados dos prontuários dos pacientes referentes a sexo, idade, escolaridade, endereço, profissão e atividade de risco para infecção para *Cryptococcus* spp. no momento da internação. Foram pesquisadas nos prontuários de todos os pacientes informações sobre fatores de risco para infecção criptocócica, particularmente contato com aves, poeira ou *Eucalyptos* spp.

5.2.1. Geoprocessamento descritivo:

Para determinar a distribuição geográfica dos casos autóctones de *Cryptococcus* spp. de Curitiba, o endereço cadastrado no registro do CHC de cada paciente morador deste município foi codificado de acordo com o Sistema de Informação Geográfica (GIS) da prefeitura de Curitiba, processado e plotado em um mapa através do software ArcGis.

As informações sobre a distribuição das populações de pombos e de árvores de Curitiba foram obtidas nos arquivos das Secretarias de Zoonoses e de meio ambiente da prefeitura Municipal de Curitiba. Os dados sobre estas populações, codificados para o geoprocessamento foram obtidos diretamente com os pesquisadores principais no assunto e com a permissão dos mesmos para uso neste estudo e no artigo escrito em conjunto com estes pesquisadores (APÊNDICE 5). Ambos os levantamentos foram realizados no ano de 2000 (MIGUEZ, 2001; STAUDACHER e BASSI, 2002).

A população de árvores de cada localidade foi classificada de acordo com sua tipologia (MIGUEZ, 2001):

- a) Mata nativa com araucária - áreas com grande densidade de *Araucária angustifolia*;
- b) Mata nativa sem araucária – vegetação nativa constituída principalmente de árvores de grande porte, podendo inclusive conter alguns exemplares de *Araucária angustifolia*, desde que não em abundância e frequência significativas;
- c) Mata secundária em regeneração (capoeira) – área com vegetação de porte inferior, principalmente em altura, ao do tipo mata nativa. Pode conter, porém, algumas poucas árvores de grande porte e/ou *Araucária angustifolia*.
- d) Bracatingal – área com grande densidade de bracatinga (*Mimosa scabrella*);
- e) Reflorestamento – áreas evidenciando plantio regular e espaçado de árvores e que são facilmente diferenciados das áreas verdes;
- f) Mata ciliar – áreas que circundam rios e fundos de vale.

5.3. Avaliação imunológica:

Na revisão do prontuário, a sorologia para HIV de cada paciente foi registrada. Os pacientes cujas sorologias para HIV não puderam ser identificadas foram incluídos

apenas para o estudo de georreferenciamento descritivo e excluídos de todas as demais análises.

Informações sobre outras causas de imunodepressão foram coletadas (como uso de drogas imunossupressoras, transplante de órgãos, neoplasias, doenças reumatológicas, insuficiência hepática, renal, desnutrição ou gestação).

5.4. Classificação em grupos:

Após a revisão do prontuário, cada paciente foi alocado em 2 grupos, de acordo com as seguintes classificações:

- a. Grupos de acordo com o estado imunológico:
 - a. HIV+ - pacientes com sorologia positiva para HIV de acordo com as normativas do Ministério da Saúde (BRASIL, 2013);
 - b. ID – pacientes HIV negativos com outras causas de imunodepressão;
 - c. IC – pacientes HIV negativos sem causas de imunodepressão identificadas.
- b. Grupos de acordo com o complexo de espécies *C. neoformans*/ *C. gattii* isolado no LCR:
 - d. CECN– pacientes acometidos pelo complexo de espécies *C. neoformans*
 - e. CECG – pacientes acometidos pelo complexo de espécies *C. gattii*.

5.5. Características imunológicas e da doença de base:

Quando disponíveis no prontuário, foram registrados a contagem de células CD4, CD8 bem como outras informações que pudessem estar associadas ao estado imunológico do paciente.

Para os pacientes do grupo HIV+ foram registrados a data do primeiro teste positivo, a data do diagnóstico de AIDS, as contagens de células CD4+, CD8+, e carga viral e antirretrovirais em uso no diagnóstico de meningite criptocócica. Foram registrados ainda a presença de comportamentos de risco para criptococose, se a infecção criptocócica foi a doença definidora de AIDS e se o paciente apresentou síndrome inflamatória da reconstituição imune (SIRI).

Para os pacientes do grupo ID informações adicionais foram resgatadas do prontuário conforme a causa de imunossupressão. Nos casos de pacientes etilistas ou que tinham sinais de insuficiência hepática, níveis de TGO, TGP, GGT, albumina, TAP, TTPA, TS do momento do diagnóstico foram registrados. Para pacientes diabéticos o HBA1c e o uso de insulina foram incluídos como dados. A dose, o princípio ativo e o tempo de uso de drogas imunossupressoras foram registrados bem como a dosagem de albumina e IMC de pacientes com desnutrição grave. Para pacientes com história de neoplasia foram pesquisados o tempo de diagnóstico, dose, tempo de uso e princípio ativo de qualquer quimioterapia ou radioterapia utilizadas. Se o paciente recebeu transplante de medula óssea a indicação, o tipo, e o tempo de transplante foram coletados bem como se o paciente apresentou doença de enxerto versus hospedeiro antes ou durante o quadro de meningite criptocócica. Caso o paciente tenha recebido transplante de órgão sólido, foram registrados a indicação, tipo de transplante, tempo do transplante e esquema de imunossupressão. Para pacientes com insuficiência renal foram pesquisados uréia, creatinina, albumina, tempo de insuficiência e frequência de hemodiálise. Se a paciente estivesse grávida durante o diagnóstico de meningite criptocócica, seriam registrados a idade gestacional do diagnóstico e do parto, outras complicações da gravidez e desfecho para o feto.

5.6. Características clínicas de apresentação e evolutivas:

Para pacientes de todos os grupos foram registrados os sinais e sintomas de apresentação, laboratório com função renal e hepática inicial, hemograma inicial e final, todos os resultados de LCR, tempo de internação e tratamento, antifúngico utilizado, necessidade de derivação ou outro procedimento neurocirúrgico, sequelas, complicações, crises epiléticas de início após a apresentação, coinfeção em sistema nervoso central e data do óbito ou perda de acompanhamento. Na presença de *Cryptococcus* spp. em outro sítio foi pesquisada a necessidade de debridamento cirúrgico.

Foram registradas todas as informações sobre laudos de tomografias ou ressonâncias magnéticas encefálicas eletroencefalograma, radiografia de tórax, biópsias de sítios infectados pelo *Cryptococcus* spp. ou necrópsias.

5.7. Características físicas, citoquímicas e micológicas do LCR:

Para todos os pacientes, foram registradas as características da primeira amostra de líquido cefalorraquidiano disponível na admissão por meningite criptocócica (LCR da admissão) e da última amostra de LCR antes do desfecho, tenha sido ele óbito ou alta (LCR do desfecho). Estas características incluem: análises citológicas (citologia total e diferencial), bioquímicas (glicorraquia, em mg/dL; proteinorraquia, em mg/dL e ácido láctico, em mmol/L), micológicas (cultura para fungos e micológico direto), látex (antígeno capsular para criptococos) bem como análises sorológicas, bacteriológicas, parasitológicas e virais para investigação de coinfeção além de pressão de abertura e fechamento durante a punção líquórica (aferida por raquimanômetro em mmH₂O) e glicose sérica no momento da punção se disponível.

Quando a contagem de hemácias no LCR foi maior do que 700, a citologia e proteinorraquia foram corrigidas subtraindo-se 1 célula para cada 700 hemácias e 1,1mg/dL de proteína para cada 1000 hemácias (COMAR et al., 2009; NIGROVIC et al., 2011; SEEHUSEN et al., 2003).

Para análise evolutiva, o LCR do desfecho foi comparado ao LCR da admissão. Nas ocasiões em que o paciente já estava em tratamento para meningite criptocócica no momento em que foi internado no CHC (por exemplo em casos de transferências), o primeiro LCR disponível naquela internação não foi incluído. Nos casos em que o paciente foi transferido ao CHC já em tratamento porém o LCR do diagnóstico foi descrito na transferência, esse LCR foi incluído. Nos casos em que a última amostra de LCR disponível foi coletada antes ou no mesmo dia do início do tratamento antifúngico esta amostra não foi considerada representativa do desfecho e por isso foi excluída.

5.8. Métodos estatísticos:

Todos os dados foram coletados na Folha de coleta de dados desenvolvida para este estudo (APÊNDICE 3) e foram plotados em planilha do Microsoft Excel 2010. As variáveis categóricas foram descritas em número (N[%]) e comparadas usando-se o teste do qui quadrado (χ^2) ou teste exato de Fisher. Variáveis contínuas foram descritas em mediana e interquartil (IQR) e comparadas por testes não paramétricos (Mann–Whitney, Kruskal Wallis e Wilcoxon, sendo considerado estatisticamente significativo se $p \leq 0,05$). A curva de sobrevida de Kaplan-Meier foi plotada em dias após internação

até o seguimento máximo de 1000 dias e a diferença entre elas foi calculada através do método log-rank.

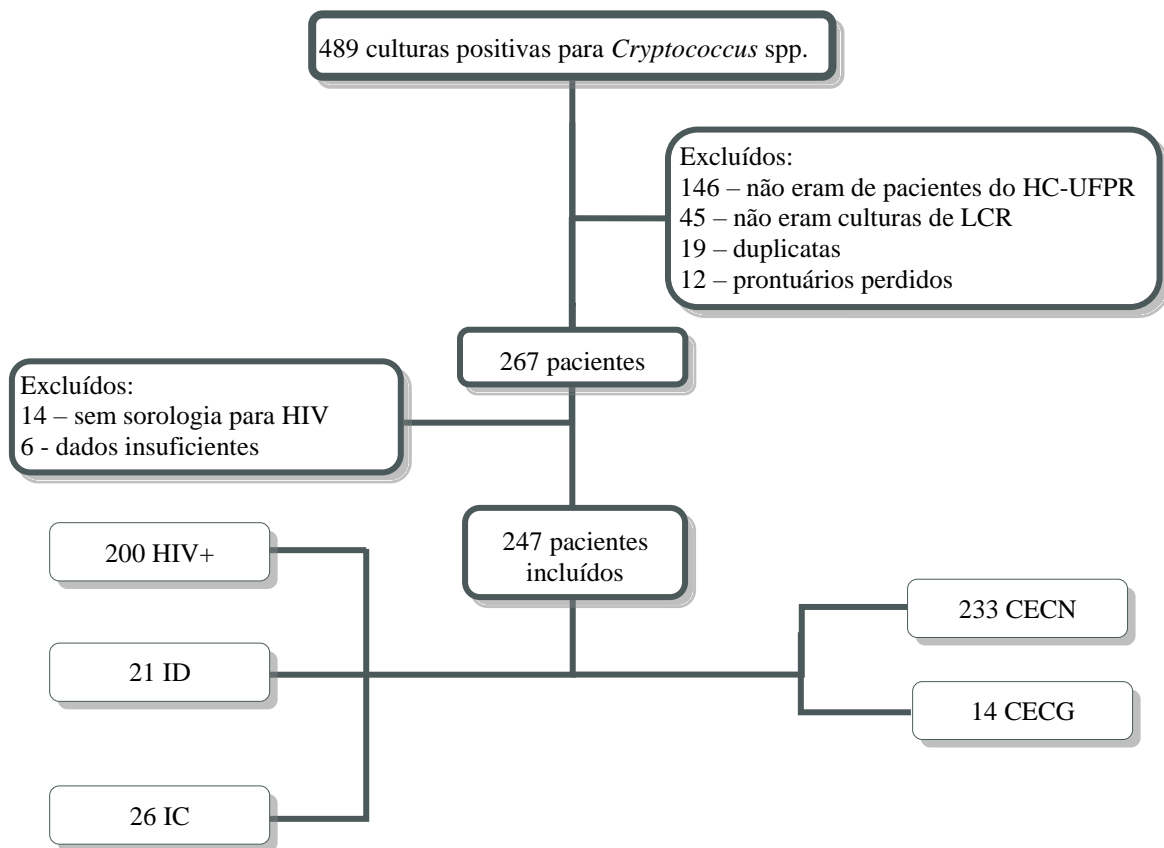
5.9. Casuística:

Foram identificados no arquivo da Seção de micologia do setor de análises clínicas do CHC-UFPR 489 culturas positivas para *Cryptococcus* spp. realizadas no período de 28/09/1983 a 05/08/2013. Desses, apenas 343 eram de pacientes que haviam sido atendidos no CHC, sendo que 45 destes pertenciam a pacientes cujas culturas eram apenas de outras amostras que não o LCR. 19 registros eram duplicatas e 12 prontuários não foram encontrados.

Foram revisados 267 prontuários, porém, 14 pacientes não realizaram sorologia para HIV ou realizaram porém o resultado não pôde ser obtido. Seis prontuários não continham dados sobre apresentação ou LCR e portanto foram excluídos por dados insuficientes.

No total, 247 pacientes foram incluídos neste estudo e foram classificados em grupos de acordo com seu estado imunológico e de acordo com o complexo de espécies responsável pela meningite criptocócica (FIGURA 1). O detalhamento dos pacientes excluídos por não apresentarem sorologia conhecida para HIV encontra-se no ANEXO E.

FIGURA 1 - FLUXOGRAMA DOS SUJEITOS INCLUÍDOS E EXCLUÍDOS NESTE ESTUDO E SUA DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS GRUPOS.



FONTE: O autor (2016)

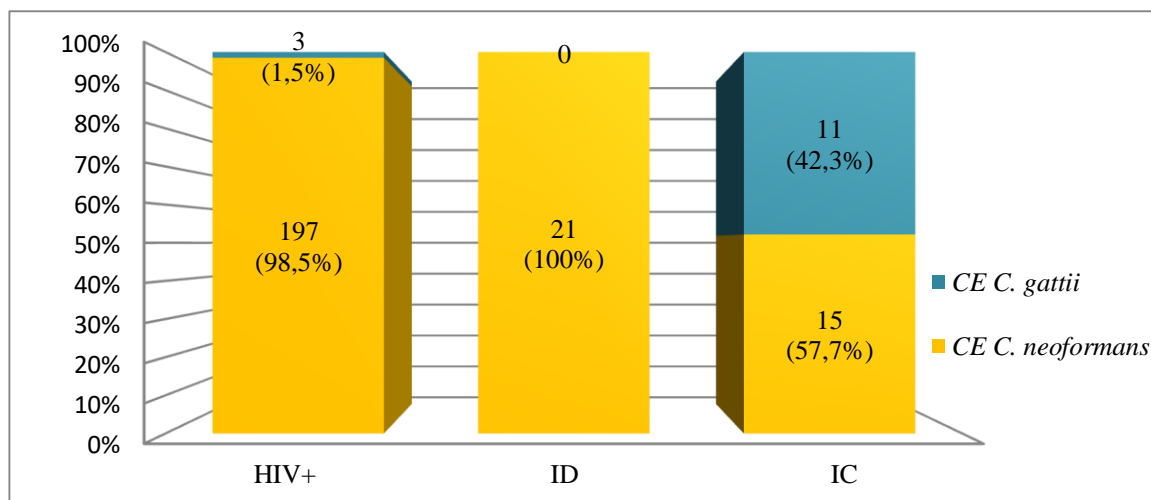
6. RESULTADOS

6.1. Epidemiologia

Do total de 247 pacientes incluídos neste estudo, 200 (80,9%) tinham sorologia positiva para HIV (grupo HIV+), 21 (8,5%) tinham sorologia negativa para HIV e apresentavam outro fator de imunodepressão (grupo ID) e 26 (10,5%) tinham sorologia negativa para HIV e nenhum outro fator de imunodepressão identificado (grupo IC). Houve predomínio de pacientes no grupo HIV+ em relação aos grupos ID ($p < 0,0001$) e IC ($p < 0,0001$). Porém, não houve diferença estatisticamente significativa na proporção de pacientes nos grupos IC e ID ($p = 0,539$). As condições que determinaram a classificação do paciente no grupo ID estão especificadas no ANEXO A.

Entre os 247 pacientes, 14 (5,6%) e 233 (94,7%) foram acometidos por fungos do complexo de espécies *C. gattii* (grupo CECG) e *C. neoformans* (grupo CECN), respectivamente ($p < 0,0001$). Dos 14 pacientes do grupo CECG, três (21,4%) eram do grupo HIV+ e 11 (78,5%) do grupo IC ($p = 0,008$) (GRÁFICO 1).

GRÁFICO 1 - COMPLEXO DE ESPÉCIE DE *Cryptococcus* spp. INFECTANTE POR GRUPO.

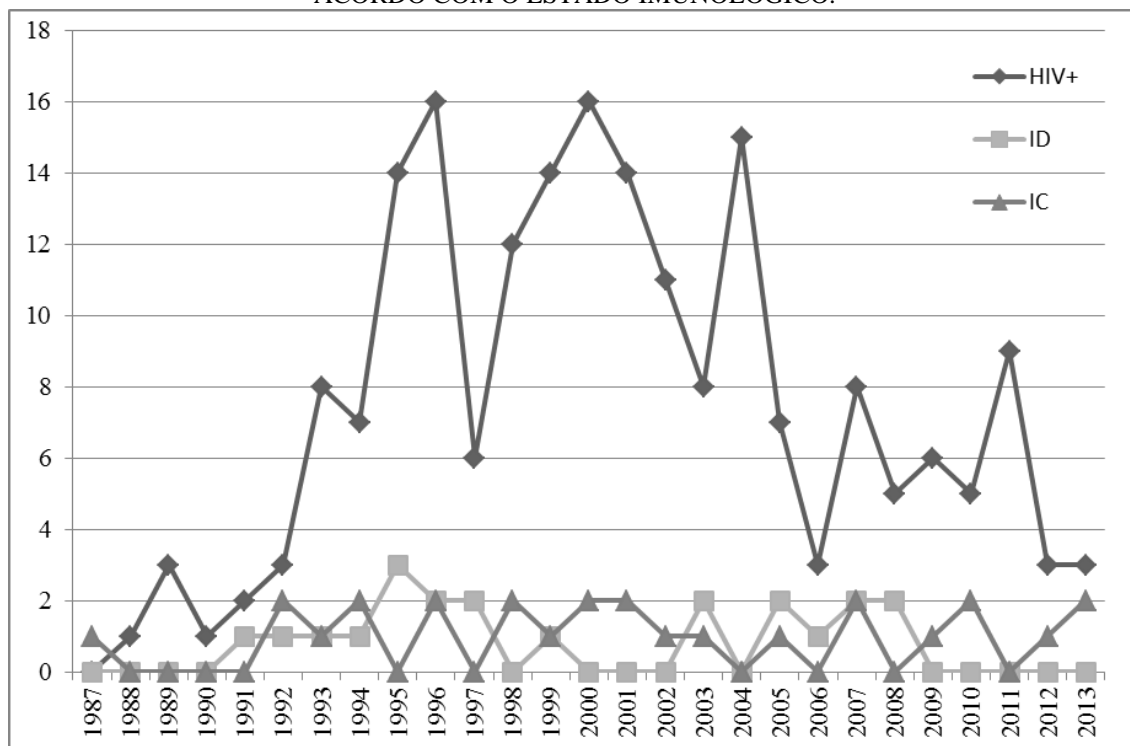


FONTE: O autor (2016)

A frequência de meningite criptocócica diagnosticada por ano no CHC-UFPR variou durante os 30 anos estudados. Houve um aumento na incidência entre os anos 1994 e 2004. Ao analisar a incidência de acordo com os grupos observa-se que este aumento foi decorrente de um aumento na frequência no grupo HIV+ e no grupo

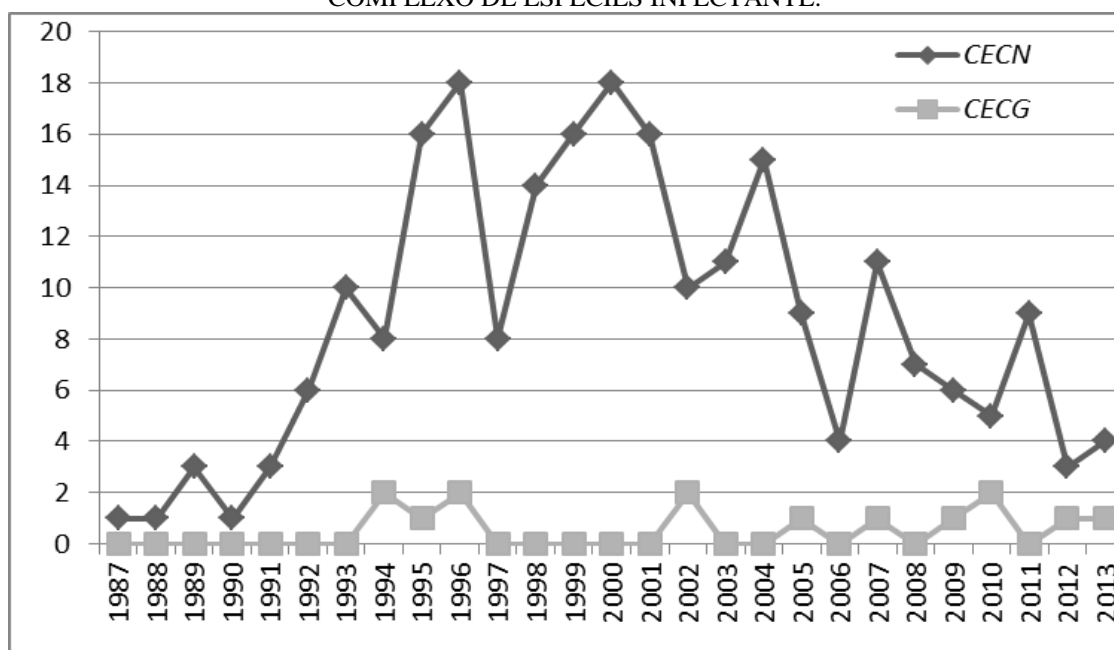
CECN. A partir de 2004, a incidência de meningite criptocócica no grupo HIV+ teve tendência a diminuir, sem, no entanto, retomar ao patamar prévio a 1992. Os grupos ID e IC e o grupo CECG não sofreram variação significativa na incidência de casos ao longo dos anos estudados. (GRÁFICOS 2 E 3)

GRÁFICO 2 - FREQUÊNCIA DE MENINGITE CRIPTOCÓCICA POR ANO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO.



FONTE: O autor (2016)

GRÁFICO 3 - FREQUÊNCIA DE MENINGITE CRIPTOCÓCICA POR ANO, DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.



FONTE: O autor (2016)

6.1.1. Sexo

Do total dos pacientes nos grupos HIV+, ID e IC, 150 (75%), 13 (61,9%) e 17 (65,4%) eram do sexo masculino, respectivamente ($p=0,27$). Quando considerados os grupos de acordo com o complexo de espécies infectantes, 11 (78,5%) e 169 (72,5%) dos pacientes nos grupos CECG e CECN eram do sexo masculino, respectivamente ($p=0,76$).

6.1.2. Idade

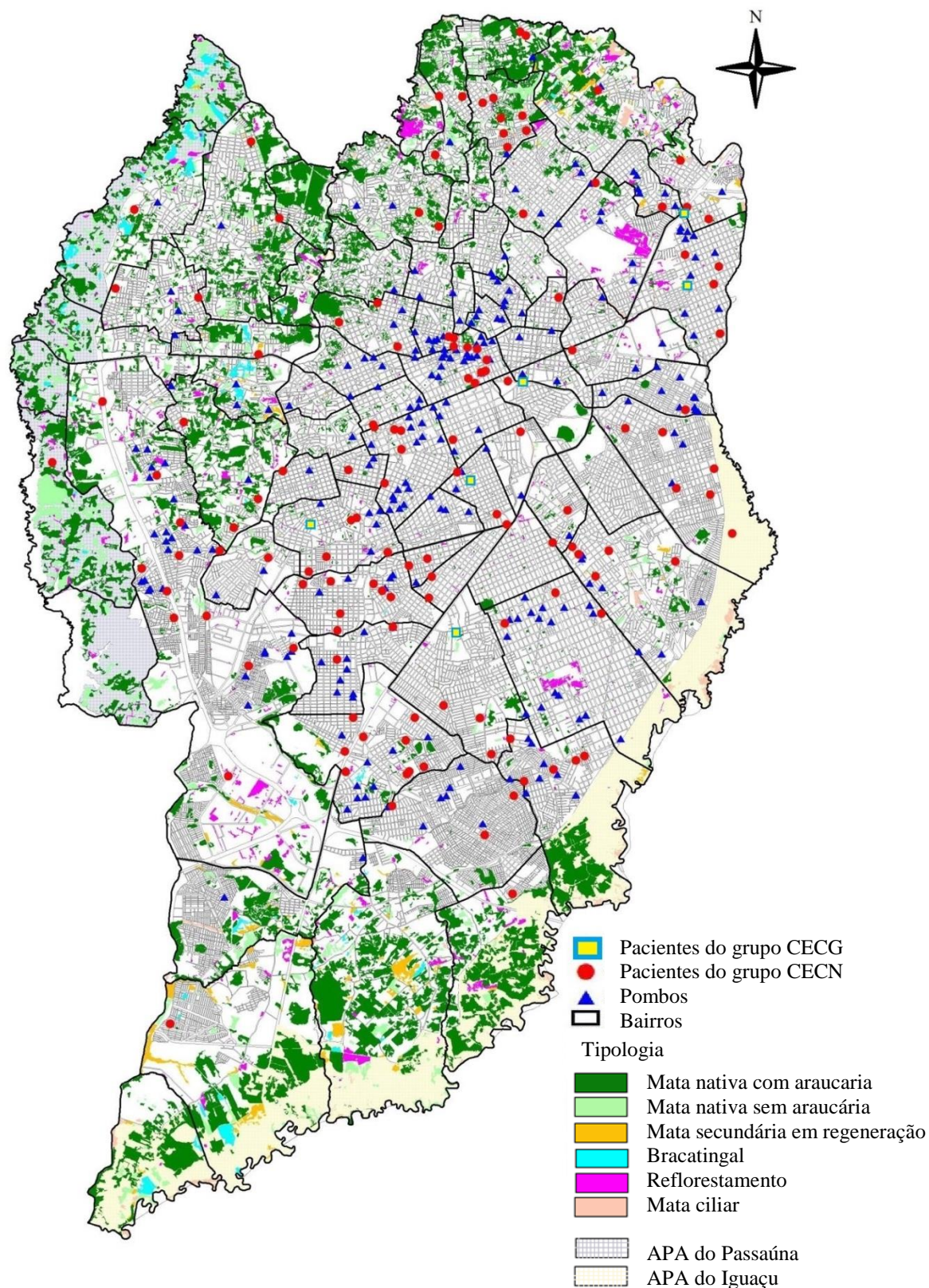
Os pacientes do grupo IC apresentaram maior mediana de idade (46,5 anos) do que os pacientes do grupo HIV+, (35 anos, $p=0,0002$) e do grupo ID (37 anos, $p=0,037$), porém não houve diferença de idade estatisticamente significativa entre os grupos HIV+ e ID. Os pacientes do grupo CECG tiveram uma tendência a ter maior mediana de idade (42,5 anos) do que aqueles no grupo CECN (35 anos), porém isso não foi estatisticamente significativo ($p=0,06$).

6.1.3. Geoprocessamento descritivo

Ao longo dos 30 anos estudados, 140 (56,6%) pacientes eram moradores de Curitiba no momento da admissão. Destes, seis (4,2%) apresentaram meningite criptocócica pelo CE *C. gattii* e 134 (95,7%) pelo CE *C. neoformans*. Entre os pacientes acometidos pelo CE *C. gattii* quatro (66,6%) eram HIV negativos imunocompetentes e dois (33,3%) eram HIV+. Entre os pacientes acometidos pelo CE *C. neoformans* quatro (2,9%) eram HIV negativos imunocompetentes, nove (6,7%) eram HIV negativos imunodeprimidos por outras causas, 113 (84,3%) eram HIV+ e oito (5,9%) não tinham sorologia conhecida para HIV. Os pacientes com sorologia desconhecida para HIV foram incluídos apenas no estudo de geoprocessamento descritivo e portanto excluídos das demais análises deste trabalho.

A distribuição geográfica dos pacientes residentes em Curitiba no momento do diagnóstico, das populações de pombos dessa cidade e o mapa tipológico das árvores curitibanas estão plotados na FIGURA 2.

FIGURA 2 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS PACIENTES RESIDENTES EM CURITIBA AFETADOS PELOS COMPLEXOS DE ESPÉCIES *C. neoformans* E *C. gattii* E DAS POPULAÇÕES DE POMBOS E DE ÁRVORES DE CURITIBA.



FONTE: SPINA-TENSINI, T. et al. Geographic distribution of patients affected by *Cryptococcus neoformans*/*Cryptococcus gattii* species complexes meningitis, pigeon and tree populations in Southern Brazil. *Mycoses*, v. 59, n. 9. 2016

Os casos de meningite criptocócica por CE *C. neoformans* não estiveram distribuídos de forma homogênea pela cidade. Enquanto algumas regiões permaneceram livres de casos ao longo de todos os 30 anos estudados, outras tiveram maior concentração de casos. A distribuição de pacientes afetados pelo CE *C. neoformans* não parece ser explicada pela densidade populacional dos respectivos bairros, classe econômica dos mesmos ou área de abrangência do Complexo Hospital de Clínicas da UFPR.

As populações de pombos estiveram localizadas predominantemente em regiões bem urbanizadas, com a maior concentração ocorrendo no centro histórico da cidade. Uma grande proporção da população de pombos esteve localizada próxima a residências de pacientes acometidos pelo CE *C. neoformans*. Porém, muitos pacientes acometidos pelo CE *C. neoformans* não habitavam próximo a regiões povoadas por pombos identificadas, principalmente no norte da cidade ou próximo às fronteiras do município.

A principal tipologia de árvores identificada foi a mata nativa com *Araucaria angustifolia*. A maior densidade de arborização e parques urbanos de grande porte estão localizados próximo às fronteiras do município, sobretudo nas regiões norte, sul e noroeste. Mesmo as regiões mais densamente arborizadas estavam entremeadas a grandes áreas urbanizadas. Apesar disso, nenhum caso de meningite criptocócica pelo CE *C. gattii* foi identificado nestas áreas, e a maior parte dos casos de CE *C. neoformans* estiveram afastados destas áreas. Quatro dos casos de meningite criptocócica pelo CE *C. gattii* ocorreram próximos a populações de pombos identificadas. Cinco dos seis casos de meningite pelo CE *C. gattii* ocorreram próximos a grandes áreas não construídas e pouco arborizadas.

6.2. Particularidades dos grupos, de acordo com o estado imunológico.

6.2.1. Pacientes HIV positivos (grupo HIV+)

Entre os pacientes do grupo HIV+, 96 (48%) abriram o quadro de AIDS com meningite criptocócica; 65 (32,5%) já estavam em uso de TARV há pelo menos uma semana antes da internação por esta doença. Desses, nove estavam em monoterapia com zidovudina (AZT), todos com diagnóstico de neurocriptococose entre 1994 e 1996.

As quantificações dos linfócitos CD4+, CD8+ e carga viral foram realizadas em repectivamente n(%) 124 (62), 119 (59,5) e 50 (25) pacientes. A mediana (IQR) da quantificação de células CD4+ foi 31células/mm³ (13; 70,5), a da quantificação de células CD8+ foi 396 células/mm³ (242,5; 608,5) e a da carga viral, 133000 (23070; 311789).

Dos 124 pacientes que dispunham da quantificação dos linfócitos CD4+, 18 (14,5%) tinham CD4+ \geq 100 células/mm³ (min-máx: 100-460 células/mm³). Entre os pacientes que fizeram contagem de carga viral, dois (4%) tinham carga viral indetectável e cinco (10%) tinham carga viral acima do limite máximo.

Entre os pacientes do grupo HIV+, 68 (34%) apresentavam outra comorbidade no diagnóstico de meningite criptocócica. As comorbidade encontradas foram, por número de pacientes (%): tuberculose 24 (12%), hepatite C 19 (9,5%), neurotoxoplasmose oito (4%), transtornos psiquiátricos sete (3,5%) hepatite B cinco (2,5%), hepatite inespecificada cinco (2,5%), epilepsia três (1,5%), hemofilia três (1,5%), sífilis dois (1%), insuficiência renal crônica dois (1%), linfoma dois (1%), doença de Crohn dois (1%) e acidente vascular cerebral dois (1%) .

No grupo HIV+, 39 (19,5%) pacientes se declararam usuários de cocaína (13 forma injetável, dez crack, seis cocaína inalatória, 16 não especificaram a forma), dez (5%) pacientes se declararam ex-usuários de cocaína (em abstinência por ao menos seis meses, quatro (2%) usuários de crack, quatro (2%) de cocaína injetável e quatro (2%) de cocaína inalatória). 49 (24,5%) pacientes do grupo HIV+ se declararam etilistas no momento do diagnóstico de neurocriptococose, o consumo mediano (IQR) de destilado e cerveja foi respectivamente de 1000 mL/d (147,25; 1000) e 1200mL/d (1050; 1260). O tabagismo foi relatado em 70 (35%) dos pacientes com consumo mediano (IQR) de 16 maços ano. (6; 23,5); 34 (17%) eram ex-tabagistas (em abstinência por pelo menos seis meses). Nenhum paciente apresentava registro de fatores de risco específicos para infecção criptocócica no prontuário além da infecção pelo HIV.

O detalhamento sobre escolaridade e as ocupações mais frequentes de acordo com cada grupo está descrito no ANEXO B.

6.2.2. Pacientes HIV negativos imunodeprimidos por outras causas (grupo ID)

O grupo ID foi caracterizado pela presença de sorologia negativa para HIV e presença de outra condição imunodepressora.

Entre os 21 pacientes HIV negativos com outras causas de imunodepressão, dez (47,6%) tinham mais de uma comorbidade e quase todos estavam em uso de droga imunossupressora.

A principal condição imunodepressora encontrada foi o uso de medicação imunossupressora, presente em 19 (90,5%) pacientes. As principais drogas imunossupressoras usadas foram prednisona (17; 80,9% dos pacientes) e azatioprina (10; 47,6% dos pacientes). Entre as condições clínicas mais comuns que justificaram o uso de medicação imunossupressora encontram-se o transplante renal (11; 52,3% dos pacientes) e o linfoma (quatro; 19% dos pacientes). Nenhum paciente apresentava diabetes melítus avançado ou gravidez no momento do diagnóstico de meningite criptocócica. O detalhamento das condições que justificaram a categorização do paciente no grupo ID encontra-se no Anexo A.

Um (4,7%) paciente relatou etilismo no grupo ID, com consumo de um litro de destilado ao dia por 23 anos (paciente com cirrose hepática e hepatite C com sinais de insuficiência hepática), porém declarou estar em abstinência há dez anos. Dois pacientes relataram tabagismo, com consumo médio (min-máximo) de 12,5 maços/ano (10; 15) e três pacientes eram ex-tabagistas. Nenhum paciente apresentava registro de fatores de risco específicos para infecção criptocócica no prontuário além das causas de imunodepressão.

6.2.3. Pacientes HIV negativos sem outras causas de imunodepressão identificadas (grupo IC)

Entre os pacientes do grupo IC, sete (26,9%) pacientes apresentavam comorbidade. Cinco (19,23%) apresentavam hipertensão arterial sistêmica, sendo que um (3,8%) deles também apresentava doença valvar, a idade mediana (IQR) destes pacientes foi de 47 anos (46; 50,75). Uma (3,8%) paciente de 21 anos havia realizado ooforectomia sete meses antes do diagnóstico, a indicação da cirurgia não foi descrita no prontuário. Um (3,8%) paciente era portador de hepatite C (HCV), porém sem

evidência clínica, laboratorial ou radiológica de insuficiência hepática. Um (3,8%) paciente apresentava história mórbida pregressa de traumatismo crânio-encefálico oito meses antes do diagnóstico de meningite criptocócica.

Um paciente relatou consumo diário de maconha há 30 anos. Apenas um paciente relatou etilismo atual no grupo, com consumo de 2L de destilado ao dia (paciente sem sinais de insuficiência hepática). O tabagismo atual foi identificado em sete (26,9%) pacientes, com consumo mediano (IQR) de 31 maços/ano (16,5; 38); quatro (15,4%) pacientes eram ex-tabagistas.

Em quatro (15,3%) prontuários foram encontrados registros sobre atividade de risco para criptococose: um (3,8%) negou contato com aves, um (3,8%) paciente era madeireiro, uma (3,8%) paciente tinha contato com um viveiro de pássaros, esta paciente morava em casa de madeira, em uma região com presença de eucaliptos, um (3,8%) paciente morou quatro anos em área rural no Mato Grosso, tinha contato com pombos dez anos antes do diagnóstico de meningite criptocócica, negou exposição frequente a eucaliptos ou poeiras.

6.3. Quadro clínico

Dos 247 pacientes desta amostra, seis (2,42%) não dispunham de dados referentes aos sintomas relatados na apresentação porque foram transferidos para o CHC-UFPR após o diagnóstico de meningite criptocócica em outro serviço e estes dados foram perdidos durante o encaminhamento.

Dos 241 pacientes cuja apresentação clínica foi descrita no prontuário, 195 (78,9%) apresentavam cefaleia. Febre foi uma queixa de 110 (45,6%) pacientes na primeira avaliação, com temperatura mediana (IQR) de 38,5°C (38; 39°C). A febre foi uma queixa mais comum no grupo HIV+ ($p=0,004$) e menos comum no grupo IC ($p=0,042$). A presença de rigidez de nuca foi relatada em 66 (27,4%) pacientes e estava ausente em 47 (19,5%) dos pacientes, para os demais pacientes este dado não foi descrito. O grupo HIV+ apresentou uma frequência maior de rigidez de nuca em relação aos outros dois grupos ($p=0,01$) e o grupo ID, uma frequência menor ($p=0,003$).

Na primeira avaliação, 67 (27,8%) apresentavam rebaixamento do nível de consciência, este sinal esteve presente sobretudo entre os pacientes do grupo IC ($p=0,008$).

79 (32,7%) pacientes apresentaram perda de peso anterior ao diagnóstico, com perda mediana (IQR) de dez kg (6; 14) em 60 dias (30; 90). O grupo cuja queixa de perda de peso foi menos comum foi o grupo ID ($p=0,02$). Náuseas e vômitos foram queixas de 74 (30,7%), e 143 (59,3%) dos pacientes, respectivamente. Na admissão, 50 (20,7%) pacientes apresentavam algum déficit neurológico focal e este foi um achado mais comum no grupo IC ($p<0,001$).

A presença de déficit neurológico focal foi mais comum no grupo CECG ($p=0,0013$). Este foi o único sinal com diferença estatisticamente significativa entre os grupos CECG e CECN.

A descrição da apresentação clínica e tempo de instalação por grupo de acordo com o estado imunológico e de acordo com o complexo de espécies infectante, está apresentada nas TABELAS 1 e 2. O detalhamento destas informações encontra-se no Anexo B.

TABELA 1 - SINAIS E SINTOMAS PRESENTES NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO CLÍNICA, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.

n	HIV + 195	ID 20	IC 26	(p)
Cefaléia	156 (80)	15 (71,4)	23 (88,5)	0,67
Febre	98 (49)	11 (52)	7 (26,9)	0,09
Temperatura em °C ^a	38,5 (38; 39)	38,3 (37,8; 38,9)	38,5 (38,2; 38,7)	0,57
Duração em dias ^a	7 (3; 14,8)	5 (2; 6)	5 (1; 5)	0,28
Rigidez de nuca	53 (53,5)	3 (100)	10 (90,9)	0,01
Rebaixamento do nível de consciência	50 (25,6)	5 (25)	13 (50)	0,04
Duração em dias ^a	2 (1; 3,3)	5,5 (5,3; 5,8)	7 (3,5; 12)	0,02
Escore de Glasgow ^a	15 (14; 15)	15 (14; 15)	14 (11,5; 14)	0,01
Emagrecimento	67 (34,3)	2 (5)	11 (42,3)	0,04
Peso em Kg ^a	10 (6; 14)	3 (2; 4)	8 (5,5; 10)	0,08
Tempo em dias ^a	60 (30; 90)	15,5 (8,2; 22,8)	30 (30; 45)	0,04
Déficit neurológico focal	37 (18,9)	2 (5)	12 (46,1)	0,004
Crises epiléticas	10 (5,1)	0 (0)	0 (0)	0,56

Dados apresentados em n(%), exceto quando especificado de outra forma.

a – dados apresentados em mediana (IQR).

51 (%) pacientes apresentaram a primeira crise epilética de suas vidas durante a infecção criptocócica. Destes, 43 (84%), quatro (8%) e quatro (8%) pertenciam aos grupos HIV+, ID e IC, respectivamente. Apenas um paciente era do grupo CECG. Dez (20%) destes pacientes tiveram a crise antes do diagnóstico de neurocriptococose, todos eles eram dos grupos HIV+ e CECN.

Entre todos os pacientes que apresentaram a primeira crise após o diagnóstico, o tempo em mediana (IQR) após o diagnóstico foi de três dias (1; 31). Ao separarmos estes pacientes de acordo com seus grupos, a mediana (IQR) foi de três dias (1; 26), um dia (1; 31), 62 dias (47,5; 173) para os grupos HIV+, ID e IC, respectivamente, e de três dias (1; 29,5) para o grupo CECN. O paciente do grupo CECG apresentou sua primeira crise epilética 72 dias após o diagnóstico de neurocriptococose.

TABELA 2 - SINAIS E SINTOMAS PRESENTES NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO CLÍNICA, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.

	CECG	CECN	(p)
n	13	228	
Cefaléia	12 (92,3)	183 (85,5)	0,47
Febre	3 (23)	113 (49,5)	0,04
Temperatura em °C ^a	39	38,5 (38; 39)	0,44
Duração em dias ^a	5	6,5 (3; 14)	0,69
Rigidez de nuca	2 (66,6)	64 (58,2)	1,0
Rebaixamento do nível de consciência	4 (30,8)	64 (28,1)	0,76
Duração em dias ^a	4,5 (1,8; 8,8)	2,5 (1,25; 5)	0,2
Escore de Glasgow ^a	14 (14; 15)	15 (14; 15)	0,63
Emagrecimento	4 (30,7)	76 (33,3)	1,0
Peso em Kg ^a	9,5 (8; 11)	10 (6; 14)	0,97
Tempo em dias ^a	40 (30; 52,5)	60 (30; 90)	0,47
Déficit neurológico focal	8 (61,5)	43 (18,8)	0,0013
Crises epiléticas	0 (0)	10 (4,4)	1,0

Dados apresentados em n(%), exceto quando especificado de outra forma.

a – dados apresentados em mediana (IQR).

6.4. Avaliação micológica em outros sítios

Em relação à cultura para *Cryptococcus* spp. positiva em outros sítios, ou evidência radiológica de criptococose pulmonar 32 (16%), dois (9,5%), e nove (34,6%) dos pacientes nos grupos HIV+, IC ou ID tinham evidência de infecção em outro sítio, respectivamente (p=0,056). Entre os grupos por complexo de espécies infectante, cinco (35,7%) pacientes do grupo CECG e 38 (16,3%) do grupo CECN tinham evidência de infecção em qualquer outro sítio (p=0,07). Não houve diferença estatisticamente significativa para a cultura positiva para *Cryptococcus* spp. no sangue de acordo com o estado imunológico (p=0,27) ou complexo de espécies infectante (p=0,22). Porém houve diferença estatisticamente na frequência de criptococose pulmonar (p<0,0001), sendo maior no grupo IC (27%) e no grupo CECG (36%, p<0,0001).

Ao separarmos as lesões pulmonares encontradas ao raio X de tórax na admissão de acordo com o estado imunológico do paciente, as únicas diferenças

estatisticamente significativas encontradas foram na proporção de lesões do tipo massa ($p=0,001$), micronodulares ($p=0,01$) e nodulares ($p=0,04$). Tanto a lesão do tipo massa (n [%]: HIV+ um [1,5], ID zero e IC quatro [25] pacientes) quanto as lesões do tipo micronodulares (n [%]: HIV+ dois [3,1], ID um [14,2], IC quatro [25] pacientes) foram mais frequentes no grupo IC enquanto que as lesões do tipo nodular foram mais frequentes no grupo ID (n [%]: HIV+ quatro [6,2], ID dois [28,5], IC três [18,7] pacientes). Ao realizarmos comparação semelhante, porém em relação aos grupos CECG e CECN, a única diferença encontrada foi na proporção de lesão do tipo massa ($p=0,0001$), mais frequente no grupo CECG (três [33,3%] pacientes vs dois [2,5%] pacientes no grupo CECN). O detalhamento do resultado do primeiro exame de imagem pulmonar realizado na internação por meningite criptocócica encontra-se no ANEXO C.

43 (17%) pacientes realizaram o teste de aglutinação por partículas de látex no soro na admissão. O título, em mediana (IQR), entre os 35 (17%) pacientes HIV+ que realizaram o teste foi de 1000 (100; 10000) e de 5500 (1000; 10000) entre 6 (43%) pacientes IC (todos também do grupo CECG). Apenas dois (9%) dos pacientes do grupo ID, realizaram o teste de aglutinação por partículas de látex, ambos tiveram título de 10000. Entre os 37 (16%) pacientes do grupo CECN que realizaram o teste, o título em mediana (IQR) foi de 1000 (100; 10000) ($p=0,28$).

6.5. Avaliação de neuroimagem na admissão

173 (70%) pacientes foram submetidos a tomografia computadorizada ou ressonância magnética encefálicas na admissão e o laudo do respectivo exame estava disponível no prontuário. Destes, 63 (36,4%) tinham imagens normais. 19 (11%) apresentavam calcificações, 44 (25,4%) tinham lesões hipodensas na tomografia ou hipointensas em FLAIR, 24 (13,8%) apresentavam hidrocefalia e 41 (23,7%) apresentavam atrofia cerebral. Entre todos os achados de imagem cerebral estudados, o único que apresentou uma preponderância em algum grupo de acordo com o estado imunológico do pacientes foi a presença de lesão sugestiva de microangiopatia, mais comum no grupo IC. Já entre os grupos de acordo com o complexo de espécies infectante, as lesões hipodensas foram mais comuns no grupo CECN ($p=0,012$) e o criptococoma mais frequente no grupo CECG ($p=0,039$). As TABELAS 3 e 4 mostram

os achados da imagem encefálica na admissão, de acordo com grupo, por estado imunológico e por complexo de espécies.

TABELA 3 – RESULTADOS DA PRIMEIRA IMAGEM ENCEFÁLICA REALIZADA NA INTERNAÇÃO POR MENINGITE CRIPTOCÓCICA, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.

n	HIV + 139	ID 12	IC 22	(p)
Normal	54 (38,8)	4 (33,3)	5 (22,7)	0,36
Calcificações	14 (10)	3 (25)	2 (9)	0,24
Lesão de substância branca	1 (0,7)		2 (9)	0,05
Lesão hiper^a	1 (0,7)	1 (8,3)	1 (4,5)	0,09
Lesão hipo^b	33 (23,7)	3 (25)	9 (41)	0,23
Hidrocefalia	19 (13,6)	1 (8,3)	4 (18,1)	0,69
Lesão captante de contraste	6 (4,3)		2 (9)	0,47
Criptococoma	3 (2,1)		2 (9)	0,15
Atrofia	37 (26,6)	2 (16,6)	2 (9)	0,18
Edema	6 (4,3)			1,0

Todos os resultados foram descritos em n(%).

a – lesão hiperdensa na tomografia computadorizada ou hiperintensa em FLAIR, na ressonância magnética.

b – lesão hipodensa na tomografia computadorizada ou hipointensa em FLAIR, na ressonância magnética.

TABELA 4 - RESULTADOS DA PRIMEIRA IMAGEM ENCEFÁLICA REALIZADA NA INTERNAÇÃO POR MENINGITE CRIPTOCÓCICA, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.

n	CECG 12	CECN 161	(p)
Normal	3 (25)	60 (37,2)	0,53
Calcificações	2 (16,6)	17 (10,5)	0,62
Lesão de substância branca		3 (1,8)	1,0
Lesão hiper^a		3 (1,8)	1,0
Lesão hipo^b	7 (5,8)	38 (23,6)	0,008
Hidrocefalia		24 (14,9)	0,37
Lesão captante de contraste	1 (8,3)	7 (4,3)	0,44
Criptococoma	2 (16,6)	3 (1,8)	0,039
Atrofia		41 (25,5)	0,071
Edema	1 (8,3)	6 (3,7)	0,40

Todos os resultados foram descritos em n(%).

a – lesão hiperdensa na tomografia computadorizada ou hiperintensa em FLAIR, na ressonância magnética.

b – lesão hipodensa na tomografia computadorizada ou hipointensa em FLAIR, na ressonância magnética.

6.6. LCR de admissão

Ao todo, 241 (97,5%) dos prontuários dispunham do resultado citológico do primeiro LCR coletado após admissão por meningite criptocócica. Seis pacientes

receberam o diagnóstico em outra instituição e os dados sobre o LCR de admissão não estavam disponíveis na transferência do paciente ao CHC-UFPR.

Na análise de todos os pacientes, independentemente de estado imunológico ou complexo de espécies, a celularidade mediana do LCR de admissão foi de $28/\text{mm}^3$ (4; 99,5), houve predomínio linfocítico, com contagem mediana de $87 \text{ linfócitos}/\text{mm}^3$. Em seguida, as células mais frequentemente encontradas, em mediana (IQR), foram: neutrófilos, $9/\text{mm}^3$ (3; 37,5), monócitos, $6/\text{mm}^3$ (3; 12,5) e eosinófilos, $1/\text{mm}^3$ (1; 3). A glicose mediana inicial foi de 38mg/dL (22; 50) e a razão glicose no LCR/glicemia foi de 0,35 (0,17; 0,46). A mediana (IQR) de proteínas foi de $82,3\text{mg/dL}$ (45; 148).

6.6.1. LCR de admissão: análise de acordo com o estado imunológico

6.6.1.1 Características físicas e citoquímicas

Não houve diferença estatisticamente significativa na pressão de fechamento ($p=0,3$), índice de cor ($p=0,83$) ou contagem de hemácias ($p=0,14$) entre os grupos HIV+, IC e ID no LCR de admissão. Tampouco houve diferença estatisticamente significativa na contagem de hemácias no LCR de admissão após a correção da contagem leucocitária e proteinorraquia de acordo com a contagem de glóbulos vermelhos ($p=0,25$).

A TABELA 5 descreve a análise das características físicas, citoquímicas e micológicas do LCR de admissão. O GRÁFICO 4 ilustra a distribuição das aferições de pressão de abertura de pacientes de diferentes estados imunológicos. Os GRÁFICOS 5 e 6 ilustram a dispersão da contagem celular total e diferencial e proteína no LCR de admissão dos pacientes, as diferenças estatisticamente significativas foram ressaltadas nos gráficos.

TABELA 5 - ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DA ADMISSÃO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADOS IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.

n	HIV+ 196	ID 21	IC 24	(p)
PI - mmH₂O	300 (248; 465)	220 (175;295)	440 (330; 495)	0,09 HIV+ vs IC: 0,0002 HIV+ vs ID: 0,18 ID vs IC: 0,037
Células - cel/mm³	20,6 (3; 99,5)	65,5 (24,7; 132,5)	93,1 (61; 170,8)	<0.0001 HIV+ vs IC: 0,0001 HIV+ vs ID: 0,01 ID vs IC: 0,29
Linfócitos (%)^a	87 (67,5; 95)	47 (21; 90)	82,5 (52,2; 93,5)	0,12 HIV+ vs IC: 0,58 HIV+ vs ID: 0,047 ID vs IC: 0,17
Pred. Linf (n)%^b	104 (53)	8 (38)	18 (75)	0,24
Neutrófilos^a	7 (2,5; 37,5)	39,5 (10,5; 62,2)	17 (6; 30)	0,02 HIV+ vs IC: 0,18 HIV+ vs ID: 0,007 ID vs IC: 0,24
Pred. Neut (n)%^b	13 (6)	5 (24)	2 (8)	0,001
Monócitos^a %	6 (4; 12,5)	20,5 (5; 23)	2,5 (2; 5)	0,0056 HIV+ vs IC: 0,002 HIV+ vs ID: 0,32 ID vs IC: 0,005
Presença de Eosinófilos n(%)	21 (11)	1 (5)	5 (21)	0,27
Proteína - mg/dL	76 (42,5; 148)	100 (67,4; 187)	113,5 (72,2; 152,2)	0,043 HIV+ vs IC: 0,036 HIV+ vs ID: 0,11 ID vs IC: 0,87
Glicose- mg/dL	39 (26; 50)	27,5 (10,2; 46,5)	22 (9,5; 33,2)	0,0013 HIV+ vs IC: 0,001 HIV+ vs ID: 0,046 ID vs IC: 0,46
Glic LCR/sg - mg/dL,	0,38 (0,22; 0,46)	0,10 (0,03; 0,22)	0,20 (0,08; 0,25)	0,001
Lactato – mmol/L	3,2 (2,4; 5,4)	4,7 (4,3; 5,2)	7 (5,8; 7,1)	0,10
Látex^c positivo n(%)	65 (98)	5 (83)	7 (87)	0,07
Látex^c –Título, 1:	1000 (100; 10000)	10000 (10000; >10000)	1000 (550; 5500)	0,39
Micológico direto positivo n(%)	145 (84)	6 (43)	13 (76)	0,0009

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

PI: pressão inicial

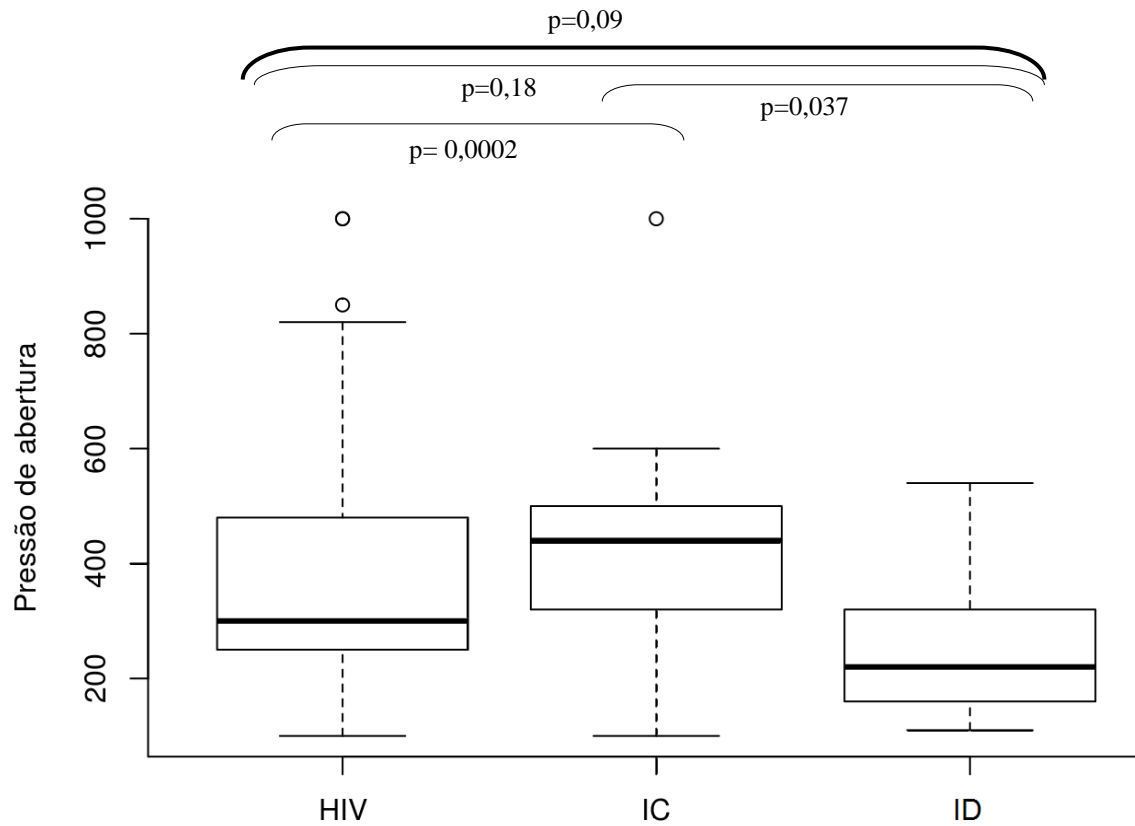
Glic LCR/sg: razão entre glicorraquia e glicemia no momento da punção líquórica.

a– porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

b - Pred = predomínio citológico com diferença ≥10% em relação ao segundo tipo celular mais frequente.

c – teste de aglutinação de partículas látex para antígeno criptocócico.

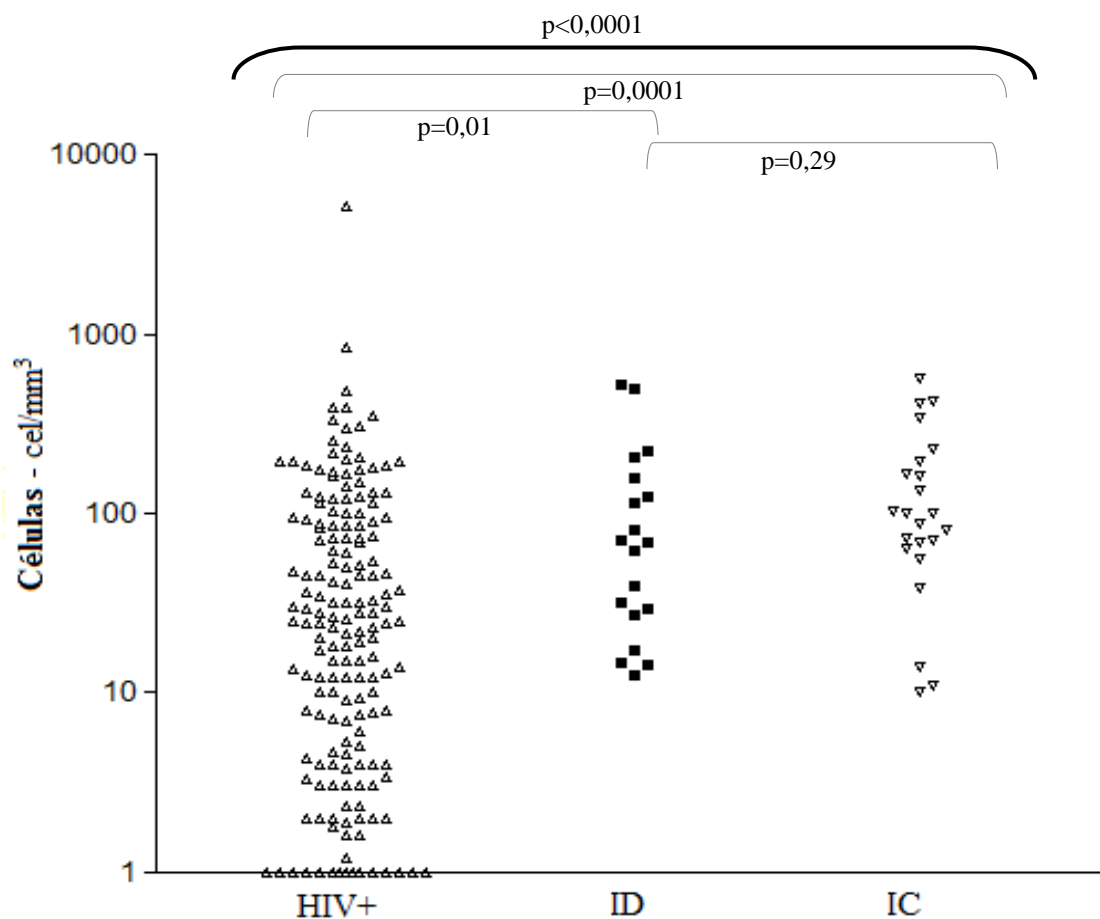
GRÁFICO 4 - PRESSÃO DE ABERTURA, EM mmH₂O NO LCR DA ADMISSÃO NOS GRUPOS HIV+, IC E ID.



FONTE: O autor (2016)

As chaves finas indicam comparação entre dois grupos (p abaixo da chave), a chave mais espessa indica comparação entre os três grupos (p acima da chave).

GRÁFICO 5 - DISPERSÃO DA CONTAGEM CITOLÓGICA ENCONTRADA NO LCR DE ADMISSÃO DOS PACIENTES NOS GRUPOS HIV+, ID E IC.

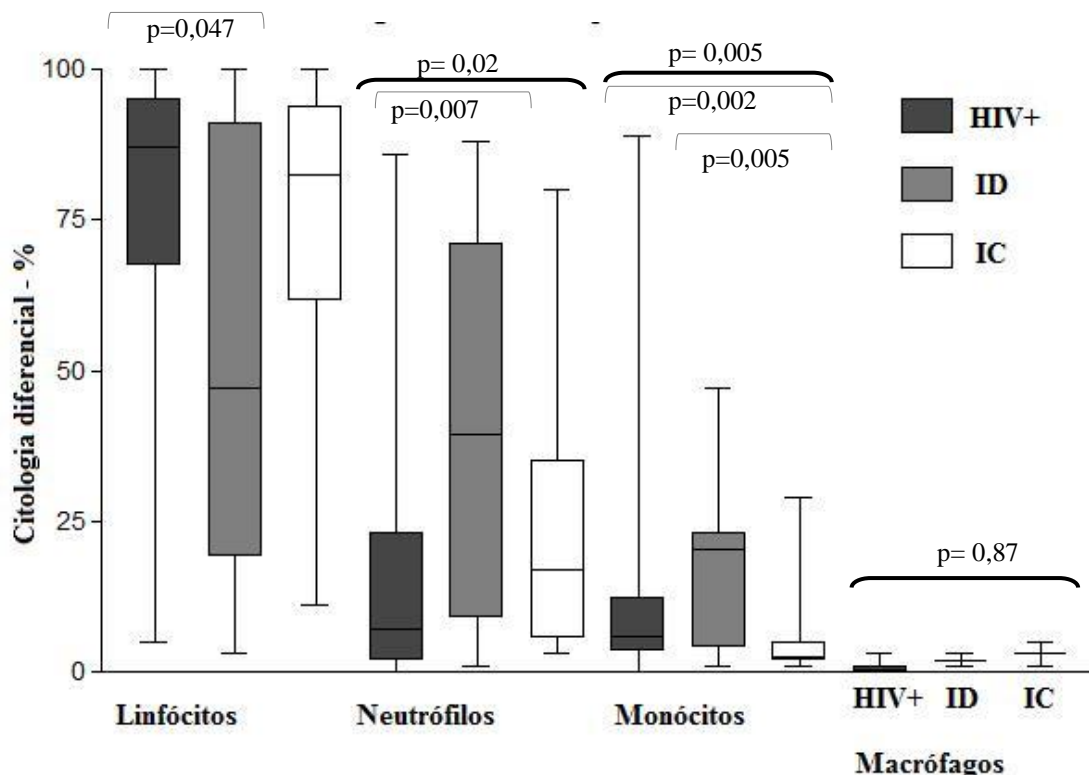


FONTE: O autor (2016)

As chaves finas indicam comparação entre dois grupos (p abaixo da chave), a chave mais espessa indica comparação entre os três grupos (p acima da chave).

Os pacientes do grupo HIV+ mais frequentemente apresentaram-se com celularidade normal ou baixa no LCR de admissão do que os grupos ID ($p=0,01$) ou IC ($p=0,0001$).

GRÁFICO 6 - DISPERSÃO DA CONTAGEM CITOLÓGICA DIFERENCIAL ENCONTRADA NO LCR DE ADMISSÃO DOS PACIENTES NOS GRUPOS HIV+, ID E IC.



FONTE: O autor (2016)

As chaves finas indicam comparação entre dois grupos (p abaixo da chave), a chave mais espessa indica comparação entre os três grupos (p acima da chave). Apenas as comparações estatisticamente relevantes foram ressaltadas.

Não houve diferença na proporção de linfócitos na primeira amostra quando comparados os três grupos ($p=0,12$). Entretanto, o grupo ID apresentou uma proporção estatisticamente menor de linfócitos em relação ao grupo HIV+ ($p=0,047$).

Houve diferença na proporção de neutrófilos entre os três grupos ($p=0,02$) e esta diferença foi decorrente da diferença na proporção de neutrófilos entre os grupos ID e HIV+, ($p=0,007$) sendo maior no primeiro grupo.

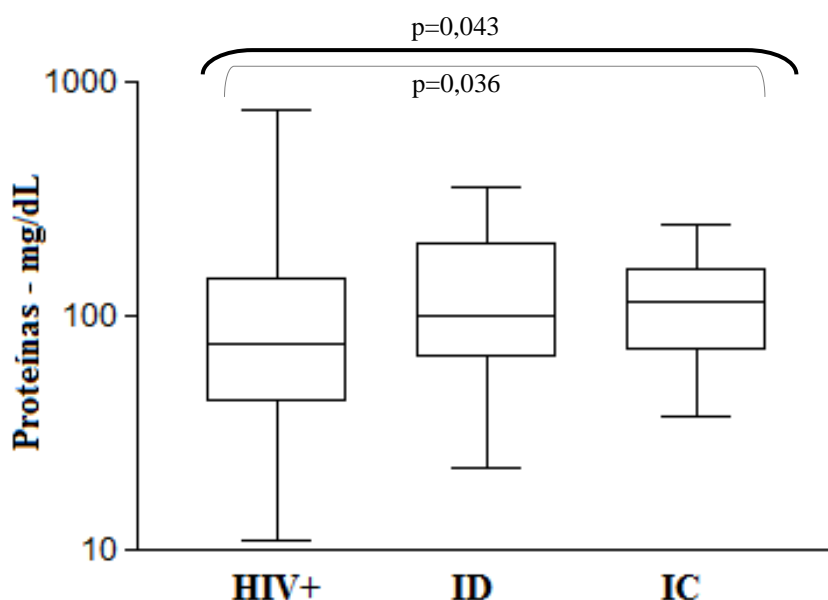
Assim, embora o grupo ID tenha apresentado a menor proporção de linfócitos e a maior proporção de neutrófilos no LCR de admissão ele diferiu de forma estatisticamente significativa apenas do grupo HIV+.

A proporção de monócitos no LCR de admissão também diferiu entre os três grupos ($p=0,0056$). O grupo com a menor proporção de monócitos na primeira amostra foi o grupo IC, com diferença em relação aos grupos HIV+ ($p=0,002$) e ID ($p=0,005$).

Houve diferença entre os três grupos na proteinorraquia do LCR de admissão ($p=0,043$). Os pacientes do grupo IC apresentavam uma proteinorraquia

consistentemente elevada na primeira amostra, diferente do grupo HIV+ ($p=0,036$) cujo resultado da proteína na primeira amostra foi mais variável, frequentemente com resultados normais (GRÁFICO 7).

GRÁFICO 7 - PROTEÍNA NO LCR DE ADMISSÃO DOS PACIENTES NOS GRUPOS HIV+, ID E IC.



FONTE: O autor (2016)

A chave fina indica comparação entre dois grupos (p abaixo da chave), a chave mais espessa indica comparação entre os três grupos (p acima da chave). Apenas as comparações estatisticamente relevantes foram ressaltadas.

6.6.1.2 Características micológicas

Houve uma tendência a maior positividade no teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico no grupo HIV+ e menor positividade no grupo ID, no entanto esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,07$). Não houve diferença no título do teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico entre os grupos ($p=0,39$), porém houve diferença na positividade do exame micológico direto ($p=0,0009$), que foi maior nos grupos HIV+ (84%), e IC (76%) e menor no grupo ID (43%). A TABELA 5 mostra os resultados da avaliação micológica no LCR de admissão dos grupos HIV+, ID e IC.

6.6.2. LCR de admissão: análise de acordo com o complexo de espécies infectante.

6.6.2.1 Características físicas e citoquímicas

Em relação à comparação entre os grupos CECG e CECN, não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao LCR de admissão no que se refere ao índice de cor ($p=0,8$) ou a contagem de hemácias ($p=0,64$) após a correção desta linhagem celular nos casos de acidente de punção (a correção incluiu contagem de leucócitos e quantificação de proteínas). A TABELA 6 descreve a análise das características físicas, citoquímicas e micológicas do LCR de admissão para os grupos CECG e CECN. Não houve diferença estatisticamente significativa entre a pressão de abertura, hemácias e índice de cor do LCR de admissão entre os grupos CECG e CECN.

Os GRÁFICOS 8 e 9 mostram, respectivamente, os gráficos do tipo boxplot para a pressão de abertura e de dispersão para a citologia total e diferencial nos grupos CECG e CECN no LCR de admissão.

TABELA 6 - ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS DO LCR DE ADMISSÃO, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.

	CECG	CECN	(p)
n	13	228	
PI - mmH ₂ O	450 (420; 490)	300 (220;450)	0,08
Células - cél/mm ³	100 (62; 182)	25,3 (4; 87,8)	0,014
Linfócitos ^a - %	87 (70; 89)	87 (60; 95)	0,76
Pred. Linf ^b (n)%	9 (69)	121 (53)	1,0
Neutrófilos ^a - %	15 (7; 28)	9 (3; 38)	0,71
Pred. Neut ^b (n)%	0	20 (9)	0,61
Monócitos ^a - %	2,5 (2; 3,5)	6 (3; 14)	0,0034
Presença de Eosinófilos n(%)	1 (8)	26 (11)	1,0
Proteína - mg/dl	111,6 (72,2; 152,2)	81,2 (45; 148)	0,53
Glicose - mg/dl	24	38	0,014
Mediana (IQR)	(9,5; 32,25)	(22,5; 50)	
Glic LCR/sg ^c (%) –	0,09 (0,07; 17)	0,28 (0,1; 0,42)	0,007
Lactato –mg/dL	6 (5,3; 7,1)	3,5 (2,4; 5,1)	0,18
Látex ^c -Positivo , n(%)	6 (100)	71 (96)	1,0
Látex ^c -Título, 1:	1000 (1000; 7750)	1000 (100; 10000)	0,22
Micológico direto positivo - n(%)	5 (83)	158 (81)	1,0

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

PI: pressão inicial

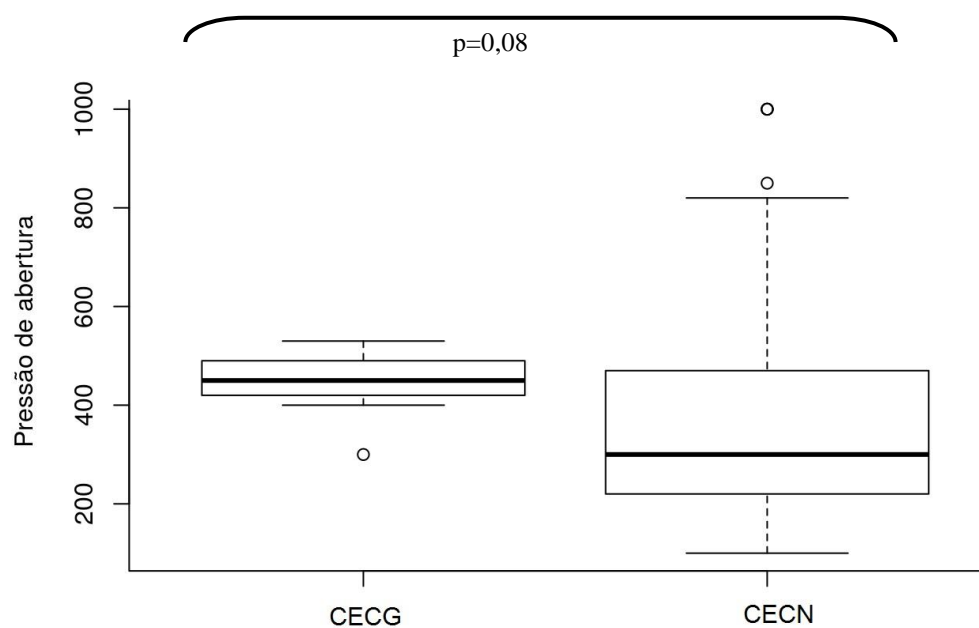
Glic LCR/sg: razão entre glicorraquia e glicemia no momento da punção liquórica.

a– porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

b -Pred = predomínio citológico com diferença ≥10% em relação ao segundo tipo celular mais frequente.

c- teste de aglutinação de partículas látex para antígeno criptocócico.

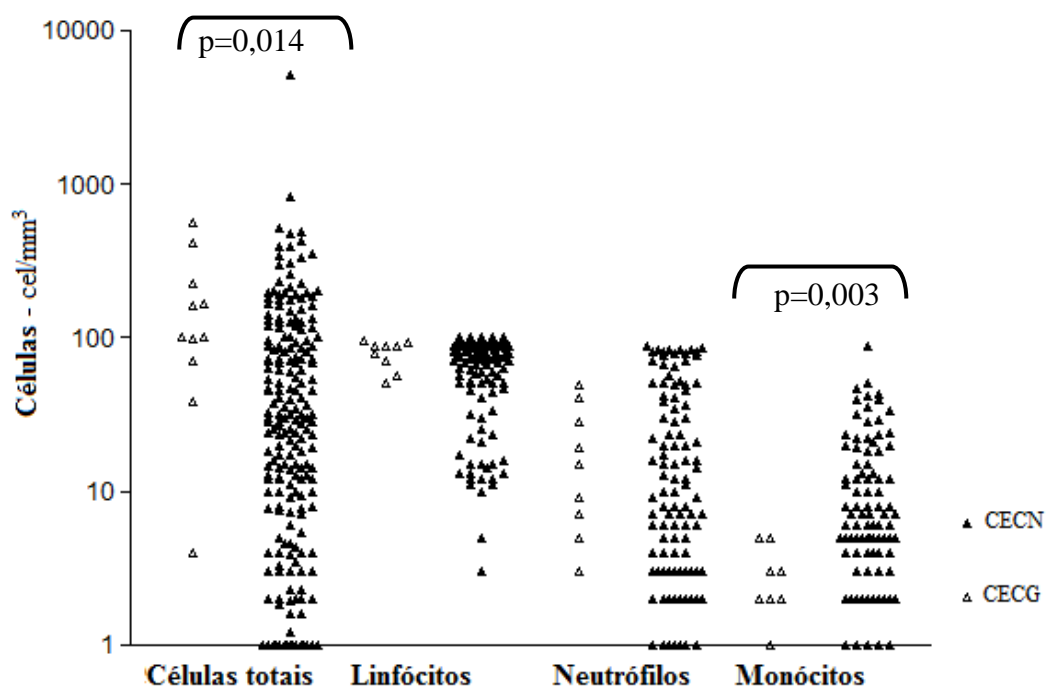
GRÁFICO 8 - PRESSÃO DE ABERTURA, EM mmH₂O NO LCR DA ADMISSÃO NOS GRUPOS CECG E CECN.



FONTE: O autor (2016)

A chave indica comparação os dois grupos (p abaixo da chave).

GRÁFICO 9 - DISPERSÃO DA CONTAGEM CITOLÓGICA ENCONTRADA NO LCR DE ADMISSÃO DOS PACIENTES NOS GRUPOS CECG E CECN.



FONTE: O autor (2016)

As chaves indicam a comparação entre os dois grupos (p abaixo da chave). Apenas as comparações estatisticamente relevantes foram ressaltadas.

Houve diferença entre os grupos CECG e CECN na citologia total do LCR de admissão, os pacientes acometidos pelo CE *C. gattii* apresentaram uma maior contagem celular ($p=0,014$). Não houve uma diferença estatisticamente significativa na proporção de linfócitos ou de neutrófilos ou macrófagos ($p=0,8$) no LCR de admissão, mas houve diferença na proporção de monócitos, sendo maior no grupo CECN ($p=0,003$).

6.6.2.2 Características micológicas

Não houve diferença estatisticamente significativa em relação à positividade no teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico ($p=1,0$) ou o título avaliado neste exame ($p=0,22$) entre os grupos CECG ou CECN. Tampouco houve diferença na positividade do exame micológico direto entre os grupos de acordo com o complexo de espécies infectante ($p=1,0$) (TABELA 6).

6.7. LCR do desfecho

Entre as amostra do último LCR coletado antes do desfecho (óbito, cura ou perda de seguimento), três foram excluídas. Uma amostra foi excluída por ter sido coletada no mesmo dia em que o tratamento antifúngico foi iniciado (um paciente do grupo ID) e duas amostras porque os pacientes não receberam tratamento antifúngico (dois pacientes do grupo HIV+, CECN).

O paciente do grupo ID com segunda amostra de LCR excluída teve micológico direto negativo na primeira e na última amostra coletada, cultura positiva em ambas, o diagnóstico foi feito pelo teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico positivo na segunda amostra de LCR.

Ambos os pacientes que não receberam tratamento antifúngico tinham história recente (um mês e nove meses antes do internamento por meningite criptocócica) de neurotoxoplasmose, o que pode ter confundido o diagnóstico de meningite criptocócica. A sorologia para toxoplasma no sangue ou no LCR não foi encontrada no prontuário destes pacientes, tampouco o relato de melhora radiológica após tratamento específico para este agente. Um dos pacientes foi encaminhado ao Hospital Oswaldo Cruz porém seu prontuário não foi encontrado naquela instituição.

Considerando todos os pacientes, mediana (IQR) de dias entre o LCR de admissão e o LCR de desfecho foi de 40 dias (15; 153). Considerando cada um dos grupos separadamente a mediana (IQR) em dias entre o LCR de admissão e o de desfecho foi de 30 (13;153) para o grupo HIV+, 98 (30; 176) para o grupo ID, 54 (25; 237) para o grupo IC ($p=0,11$). Para os grupos de acordo com o complexo de espécies infectante, a mediana (IQR) foi de 49 (22; 132) para o grupo CECG e 37 (14; 153) para o grupo CECN ($p=0,52$).

6.7.1. LCR do desfecho: análise de acordo com o estado imunológico

6.7.1.1 Características físicas e citoquímicas

Não houve diferença na contagem de hemácias ($p=0,86$), no lactato ($p=0,15$) ou na proporção de macrófagos ($p=0,07$) no LCR de desfecho entre pacientes de diferentes estados imunológicos. A TABELA 7 mostra as características físicas, citoquímicas e micológicas do LCR de desfecho e a comparação entre os grupos HIV+, ID e IC.

Com o objetivo de avaliar se o estado imunológico do paciente influenciou a frequência com que o LCR do desfecho apresentou-se normal, os valores encontrados para cada paciente no LCR de desfecho foram classificados como dentro dos valores da normalidade ou não. Nenhuma diferença foi para a pressão de abertura ($p=0,45$), celularidade ($p=0,2$), proteínas ($p=0,1$), glicose ($p=0,1$) ou lactato ($p=0,5$).

Com o objetivo de avaliar se houve diferença na evolução do LCR entre a amostra da admissão e a do desfecho entre os grupos de diferentes estados imunológicos, a razão entre os valores encontrados na admissão e do desfecho para cada uma das características do LCR foram comparadas (TABELA 8).

Na comparação entre os resultados do LCR de admissão e os do LCR do desfecho do grupo HIV+, houve diferença estatisticamente relevante em relação à pressão de abertura ($p=0,001$). Tanto o grupo ID quanto o grupo IC apresentaram diferenças na comparação do LCR de admissão e o de desfecho em relação à citologia total (ID $p=0,001$; IC $p=0,03$), glicose ($p=0,005$ para ambos os grupos) e proteínas (ID $p=0,004$, IC $p=0,04$). O grupo IC também apresentou diferença na proporção de

monócitos do LCR de admissão e LCR de desfecho ($p=0,02$). Não houve diferença na comparação da contagem de hemácias entre os LCR de admissão e de desfecho para os grupos HIV ($p=0,64$), IC ($p=0,21$) ou IC ($p=0,17$). Porém houve diferença no índice de cor da admissão e do desfecho para o grupo HIV+ ($p<0,001$). O mesmo não foi observado para os grupos ID ($p=0,13$) ou IC ($p=0,51$). As TABELAS 9 a 11 mostram a comparação entre o LCR da admissão e o LCR do desfecho nos grupos HIV+, ID e IC, respectivamente.

6.7.1.2 Características micológicas

Houve diferença na positividade do teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico ($p=0,04$) e do exame micológico direto ($p=0,01$) no LCR de desfecho entre os grupos por estado imunológico do paciente, sendo menor nos pacientes do grupo ID (TABELA 7).

Na comparação entre os resultados do LCR de admissão e os do LCR do desfecho do grupo HIV+, houve diferença estatisticamente relevante em relação ao micológico direto ($p<0,0001$) e positividade do teste de aglutinação de partículas de látex para o antígeno criptocócico ($p=0,008$) (TABELA 9). O mesmo não foi observado para os grupos ID (TABELA 10) ou IC (TABELA 11).

Entre os pacientes que dispunham em seus prontuários do resultado do LCR do desfecho, apenas 91 (51,7%) apresentavam registro do resultado da cultura para fungos. No grupo HIV+, 67 (49,2%) pacientes dispunham deste resultado, enquanto que no grupo ID e IC dez (62,5%) e 14 (58,3%) pacientes dispunham deste resultado, respectivamente. Nos grupos HIV+, ID e IC, 41 (61,1%), três (42,8%) e cinco (55,5%) culturas foram positivas para CE *C.neoformans*/ *C. gattii* nesta amostra, respectivamente ($p=0,06$).

TABELA 7 - ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS DO LCR DO DESFECHO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.

n	HIV+ 136	ID 16	IC 24	(p)
PI - mmH₂O	210 (180; 355)	135 (115; 222)	490 (405; 530)	0,057
Células - cel/mm³	15,8 (3,15; 55)	7,5 (2,8; 27,2)	19,5 (12,2; 112,5)	0,11
Linfócitos^a (%)	87,5 (65,5; 95)	87,5 (67,5; 94,5)	80,5 (56,5; 92,7)	0,78
Pred. Linf^b (n)%	70 (51)	7 (43)	15 (62,5)	0,48
Neutrófilos^a (%)	6 (1; 27)	5 (3,5; 29,7)	9,5 (2; 28,5)	0,9
Pred. Neut^b (n)%	9 (6)	1 (6)	3 (12)	0,45
Monócitos^a %	6 (3; 15,7)	7 (2; 10)	9 (3,5; 19)	0,82
Presença de Eosinófilos n(%)	16 (11,7)	2 (12,5)	1 (4)	0,6
Proteína - mg/dL	72,9 (40,7; 126,6)	36,8 (30; 64,7)	69,5 (47,3; 135)	0,025 HIV+ x IC – 0,71 HIV+ x ID – 0,0047 ID x IC – 0,039
Glicose - mg/dL	40 (28,2; 51,7)	48 (42,7; 72)	46,5 (31,7; 55,2)	0,025 HIV+ x IC – 0,177 HIV+ x ID – 0,011 ID x IC – 0,249
Glic LCR/sg - mg/dL,	0,33 (0,20; 0,44)	0,43	Minima=0 Máxima= 0,41	0,57
Lactato – mmol/L	3,1 (2,4; 4,3)	1,7 (1,4; 1,8)	3,3 (2,3; 3,9)	0,15
Latex^c - positivo	36 (87,8)	4 (50)	6 (85,7)	0,04
Látex^c – título, 1:	100 (100;1000)	100 (100; 5050)	1000 (512; 1000)	1,0
Micológico direto positivo n(%)	49 (55,7)	2 (15,4)	11 (68,7)	0,01

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

PI: pressão inicial

Glic LCR/sg: razão entre glicorraquia e glicemia no momento da punção liquórica.

a– porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

b -Pred = predomínio citológico com diferença ≥10% em relação ao segundo tipo celular mais frequente.

c- teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico

TABELA 8 - DIFERENÇAS NA EVOLUÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO LCR: RAZÃO ENTRE OS RESULTADOS DO LCR DA ADMISSÃO E DO LCR DO DESFECHO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.

	HIV+	ID	IC	(p)
PI	1,4 (1; 1,6)	2,6 (2,3; 2,9)	1 (0,86; 1,5)	0,16
Células	1,01 (0,3; 5,4)	6,5 (3,34; 42,7)	3,42 (1,14; 13,8)	0,001 HIV+vs IC-0,01 HIV+vs ID-0,002 IC vs ID – 0,45
Linfócitos	0,97 (0,84; 1,18)	0,9 (0,26; 1,04)	0,94 (0,92; 1,17)	0,5
Neutrófilos	0,93 (0,2; 3,8)	8,4 (1,35; 18,1)	4,7 (0,7; 9)	0,15
Monócitos	0,83 (0,31; 2,5)	6	0,91 (0,62; 1)	0,32
Glicose	0,93 (0,66; 1,3)	0,48 (0,19; 0,82)	0,52 (0,28; 0,71)	<0,0001 HIV+vs IC<0,0001 HIV+vs ID-0,0002 IC vs ID – 0,98
Proteína	0,95 (0,57; 1,64)	1,74 (1,1; 4,0)	1,5 (0,91; 2,7)	0,003 HIV+vs IC-0,02 HIV+vs ID-0,004 IC vs ID – 0,40

Resultados descritos em mediana (IQR).

PI: pressão inicial

TABELA 9 – CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DA ADMISSÃO E NO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES NO GRUPO HIV+.

n	LCR da admissão 196	LCR do desfecho 136	(p)
PI - mmH₂O	300 (248; 465)	210 (180; 355)	0,001
Células - cél/mm³	20,6 (3; 99,5)	15,8 (3,15; 55)	0,54
Linfócitos^a - %	87 (67; 95)	87,5 (65,5; 95)	0,8
Neutrófilos^a - %	7 (2; 37)	6 (1; 27)	0,63
Monócitos^a - %	6 (4; 12)	6 (3; 15,7)	0,89
Macrófagos^a - %	2(1; 3)	5,5 (2,5; 8,5)	0,07
Eosinófilos^a - %	1 (1; 3)	1 (1; 3,25)	0,94
Proteína - mg/dl	76 (42; 148)	72,9 (41; 126)	0,9
Glicose - mg/dl	39 (26; 50)	40 (28; 51,7)	0,61
Glic LCR/sg - (%)	0,38 (0,22; 0,46)	0,33 (0,20; 0,44)	0,95
Lactato –mg/dL	3,2 (2,4; 5,4)	3,1 (2,4; 4,3)	0,84
Látex^b -Positivo, n(%)	65 (98)	36 (87,8)	0,008
Látex^b -Título, 1:	1000 (100;10000)	100 (100; 1000)	0,07
Micológico direto	145 (84)	49 (55,7)	<0,0001
Positivo - n(%)			

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

PI: pressão inicial

Glic LCR/sg: razão entre glicorraquia e glicemia no momento da punção líquórica.

a– porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

c – teste de aglutinação de partículas látex para antígeno criptocócico.

TABELA 10 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DA ADMISSÃO E NO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES NO GRUPO ID

n	LCR da admissão	LCR do desfecho	(p)
	21	16	
PI - mmH ₂ O	220 (175; 295)	135 (115; 222)	0,25
Células - cél/mm ³	65,5 (24; 132,5)	7,5 (2,8; 27,2)	0,001
Linfócitos ^a - %	47(21; 90)	87,5 (67,5; 94,5)	0,16
Neutrófilos ^a - %	39,5 (10,5; 62,2)	5 (3,5; 29,7)	0,09
Monócitos ^a - %	20,5 (5; 23)	7 (2; 10)	0,5
Macrófagos ^a - %	Mínimo=1; Máximo =3	1	1,0
Eosinófilos ^a - %	1	Mínimo=1; Máximo = 7	1,0
Proteína - mg/dl	100 (67,4; 187)	36,8 (30; 64,7)	0,004
Glicose - mg/dl	27,5 (10; 46,5)	48 (42,7; 72)	0,005
Glic LCR/sg - (%)	0,10 (0,03; 0,22)	0,43	0,45
Lactato -mg/dL	4,7 (4,3; 5,2)	1,7 (1,4; 1,8)	0,24
Látex ^b -Positivo, n(%)	5 (83)	4 (50)	0,24
Látex ^b Título, 1:	10000 (10000; >10000)	100 (100; 5050)	NA
Micológico direto positivo - n(%)	6 (43)	2 (15,4)	0,08

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

PI: pressão inicial

Glic LCR/sg: razão entre glicorraquia e glicemia no momento da punção liquórica.

NA – Não aplicável

a– porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

b – teste de aglutinação de partículas látex para antígeno criptocócico.

TABELA 11 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DA ADMISSÃO E NO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES NO GRUPO IC.

n	LCR da Admissão	LCR do Desfecho	(p)
	24	24	
PI - mmH ₂ O	440 (330; 495)	490 (405; 530)	0,55
Células - cél/mm ³	93,1 (61; 170,8)	19,5 (12; 112,5)	0,03
Linfócitos ^a - %	82,5 (52,2; 93,5)	80,5 (56,5; 92,7)	0,82
Neutrófilos ^a - %	17 (6; 30)	9,5 (2; 28,5)	0,39
Monócitos ^a - %	2,5 (2; 5)	9 (3,5; 19)	0,02
Macrófagos ^a - %	Mínimo = 1; Máximo = 5	3 (2; 4)	1,0
Eosinófilos ^a - %	Mínimo = 1; Máximo = 9	7	0,55
Proteína - mg/dl	113,5 (72; 152,2)	69,5 (47,3; 135)	0,04
Glicose - mg/dl	22 (9,5; 33,2)	46,5 (31,7; 55,2)	0,005
Glic LCR/sg - (%)	0,20 (0,08; 0,25)	Mínimo=0; Máximo= 0,41	1,0
Lactato -mg/dL	7 (5,8; 7,1)	3,3 (2,3; 3,9)	0,15
Látex ^b -Positivo, n(%)	7 (87)	6 (85,7)	0,5
Látex ^b Título, 1:	1000 (550; 5500)	1000 (512; 1000)	0,6
Micológico direto positivo - n(%)	13 (76)	11 (68,7)	0,64

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

LCR A – LCR da admissão

PI: pressão inicial

Glic LCR/sg: razão entre glicorraquia e glicemia no momento da punção liquórica.

a– porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

b – teste de aglutinação de partículas látex para antígeno criptocócico.

6.7.2. LCR do desfecho: análise de acordo com o complexo de espécies

6.7.2.1 Características físicas e citoquímicas

Não houve diferença na contagem de hemácias ($p=0,54$), no lactato ($p=0,68$) ou na proporção de macrófagos ($p=0,4$) no LCR do desfecho na comparação de pacientes acometidos por diferentes complexo de espécies. A TABELA 12 mostra as características físicas, citoquímicas e micológicas do LCR de desfecho e a comparação entre os grupos CECG e CECN.

Com o objetivo de avaliar se o complexo de espécies infectante influenciou a frequência com que o LCR do desfecho apresentou-se normal, os valores encontrados para cada paciente no LCR do desfecho foram classificados como dentro dos valores da normalidade ou não. Nessa avaliação, nenhuma diferença para a pressão de abertura ($p=1$), celularidade ($p=0,2$), proteínas ($p=1,0$), glicose ($p=0,5$) ou lactato ($p=0,6$) foi encontrada.

Para avaliar se houve diferença na evolução do LCR entre a amostra da admissão e a do desfecho entre os grupos CECG ou CECN, a razão entre os valores encontrados na admissão e do desfecho para cada uma das características do LCR foram comparadas (TABELA 13).

Na comparação entre os resultados do LCR de admissão e os do LCR do desfecho do grupo CECN houve diferença estatisticamente relevante em relação à pressão de abertura ($p=0,0009$) e glicose ($p=0,04$). O grupo CECG apresentou diferença na comparação do LCR de admissão e o de desfecho apenas em relação à glicose ($p=0,007$). Não houve diferença na comparação da contagem de hemácias entre os LCR de admissão e de desfecho do grupo CECN ($p=0,6$) ou CECG ($p=0,62$). Porém houve diferença no índice de cor da admissão e do desfecho para o grupo CECN ($p=0,0007$). O mesmo não foi observado para o grupo CECG ($p=0,28$). As TABELAS 14 e 15 mostram a comparação entre o LCR da admissão e o LCR do desfecho nos grupos CECG e CECN, respectivamente.

6.7.2.2 Características micológicas

Não houve diferença na positividade do teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico ($p=1,0$) ou do micológico direto ($p=1,0$) no LCR de desfecho entre os grupos CECG e CECN.

Na comparação entre os resultados do LCR de admissão e os do LCR do desfecho do grupo CECN houve diferença estatisticamente relevante em relação à pressão de abertura ($p=0,0009$) e glicose ($p=0,04$), micológico direto ($p<0,0001$), título ($p=0,02$) e positividade do teste de aglutinação de partículas de látex para o antígeno criptocócico ($p=0,002$) (TABELA 15). Porém o mesmo não foi observado para o grupo CECG (TABELA 14).

No LCR do desfecho, 84 (51,5%) dos pacientes do grupo CECN e sete (53,8%) dos pacientes do grupo CECG tinham o registro do resultado da cultura fúngica em seus prontuários. Três (42,8%) e 46 (54,7%) destas culturas foram positivas para *C. neoformans*/*C. gattii* nos grupos CECG e CECN, respectivamente ($p=0,69$).

TABELA 12 - ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DO DESFECHO, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.

n	CECG 13	CECN 163	(p)
PI - mmH ₂ O	330 (160; 515)	210 (175; 335)	0,83
Células - cél/mm ³	29 (19; 114)	15 (3,1; 53)	0,049
Linfócitos^a - %	90 (63; 96)	85 (62,5; 95)	0,83
Pred. Linf^b (n)%	9 (69)	83 (50)	0,25
Neutrófilos^a - %	3 (2; 39,2)	10 (3;34)	0,49
Pred. Neut^b (n)%	2 (15)	11 (6)	0,2
Monócitos^a - %	6,5 (2,2; 9,7)	7 (3,5; 16,5)	0,37
Presença de Eosinófilos n(%)	0	19 (11)	0,36
Proteína - mg/dL	72 (39,5; 94,8)	68,5 (39,4; 129,5)	0,65
Glic - mg/dL	45 (33; 51)	42 (29; 52)	0,71
Glic LCR/sg^c - mg/dl		0,34 (0,19; 0,44)	Não aplicável
Lactato – mmol/L	2,8 (2,1; 3,9)	2,7 (2; 4)	0,68
Latex^c - Positivo	4 (100)	42 (80,7)	1,0
Látex^c – Título, 1:	1000 (1000; 5500)	100 (100; 1000)	0,12
Micológico direto positivo n(%)	4 (50)	58 (53,2)	1,0

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

a– porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

b -Pred = predomínio citológico com diferença ≥10% em relação ao segundo tipo celular mais frequente.

c- teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico

PI: pressão inicial

Glic LCR/sg: razão entre glicorraquia e glicemia no momento da punção líquórica.

TABELA 13 - DIFERENÇAS NA EVOLUÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO LCR: RAZÃO ENTRE OS RESULTADOS DO LCR DA ADMISSÃO E DO LCR DO DESFECHO, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.

	CECG	CECN	(p)
PI	0,86 (0,79; 0,93)	1,5 (1; 2)	0,161
Células	2,26 (0,89; 5,84)	1,5 (0,44; 7,2)	0,75
Linfócitos	0,94 (0,91; 1,07)	0,97 (0,82; 1,15)	0,96
Neutrófilos	7,5 (0,7; 9)	1,11 (0,2; 4,12)	0,23
Monócitos	1 (0,83; 1)	1,11 (0,2; 4,12)	0,94
Glicose	0,54 (0,22; 0,7)	0,88 (0,59; 1,26)	0,37
Proteína	1,29 (0,9; 2,63)	1,06 (0,63; 1,9)	0,003

Resultados descritos em mediana (IQR).

PI: pressão inicial

TABELA 14 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DA ADMISSÃO E NO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES NO GRUPO CECG.

n	LCR da Admissão 13	LCR do Desfecho 13	(p)
PI - mmH₂O	450 (420; 490)	330 (160; 515)	0,7
Células - cél/mm³	100 (62; 182)	29 (19; 114)	0,36
Linfócitos^a - %	87 (70; 89)	90 (63; 96)	0,44
Neutrófilos^a - %	15 (7; 28)	3 (2; 39,2)	0,31
Monócitos^a - %	2,5 (2; 3,5)	6,5 (2,2; 9,7)	0,1
Macrófagos^a - %		1	NA
Eosinófilos^a - %	1		NA
Proteína - mg/dl	111,6 (72,2; 152,2)	72 (39,5; 94,8)	0,12
Glicose - mg/dl	24 (9,5; 32,25)	45 (33; 51)	0,007
Glic LCR/sg - (%)	0,09 (0,07; 17)		NA
Lactato -mg/dL	6 (5,3; 7,1)	2,8 (2,1; 3,9)	0,24
Látex^b -Positivo, n(%)	6 (100)	4 (100)	0,3
Látex^b Título, 1:	1000 (1000; 7750)	1000 (1000; 5500)	0,88
Micológico direto positivo - n(%)	5 (83)	4 (50)	0,24

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

PI: pressão inicial

Glic LCR/sg: razão entre glicorraquia e glicemia no momento da punção líquórica.

NA – Não aplicável

a– porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

b – teste de aglutinação de partículas látex para antígeno criptocócico.

TABELA 15 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS NO LCR DA ADMISSÃO E NO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES NO GRUPO CECN.

n	LCR da Admissão 228	LCR do Desfecho 163	(p)
PI - mmH ₂ O	300 (220;450)	210 (175; 335)	0,0009
Células - cél/mm ³	25,3 (4; 87,8)	15 (3,1; 53)	0,05
Linfócitos ^a - %	87 (60; 95)	85 (62,5; 95)	0,99
Neutrófilos ^a - %	9 (3; 38)	10 (3;34)	0,79
Monócitos ^a - %	6 (3; 14)	7 (3,5; 16,5)	0,93
Macrófagos ^a - %	2 (1; 3)	4 (1; 8)	0,12
Eosinófilos ^a - %	2 (1; 3)	1 (1; 3,5)	0,74
Proteína - mg/dl	81,2 (45; 148)	68,5 (39,4; 129,5)	0,17
Glicose - mg/dl	38 (22,5; 50)	42 (29; 52)	0,04
Glic LCR/sg - (%)	0,28 (0,1; 0,42)	0,34 (0,19; 0,44)	0,99
Lactato -mg/dL	3,5 (2,4; 5,1)	2,7 (2; 4)	0,3
Látex ^b -Positivo, n(%)	71 (96)	42 (80,7)	0,002
Látex ^b -Título, 1:	1000 (100; 10000)	100 (100; 1000)	0,02
Micológico direto positivo - n(%)	158 (81)	58 (53,2)	<0,0001

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

PI: pressão inicial

Glic LCR/sg: razão entre glicorraquia e glicemia no momento da punção líquórica.

a- porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

b – teste de aglutinação de partículas látex para antígeno criptocócico.

6.8. Mortalidade

A mortalidade geral foi de 92 pacientes (37,2%), sendo 72 (36%) do grupo HIV, nove (42,8%) do grupo ID e 11 (42,3%) no grupo IC (p=0,7). Três (21,4%) pacientes do grupo CECG faleceram e 89 (38,1%) do grupo CECN (p=0,2).

Não houve diferença estatisticamente significativa na curva de Kaplan-Meier plotada de acordo com os grupos por estado imunológico do paciente (p=0,532) ou por complexo de espécies infectante (p=0,13) (FIGURAS 3 e 4). Não houve diferença de idade entre os pacientes que foram a óbito e os que sobreviveram (p=0,5) e tampouco de sexo (p=0,45).

A taxa de mortalidade não permaneceu estável durante os 30 anos estudados. Antes da disponibilização de antirretrovirais no SUS, em 1996, a mortalidade no grupo HIV+ foi de 28 pacientes (53%). Nesta época a mortalidade para os grupos IC e ID foi respectivamente de quatro pacientes (50%) e quatro pacientes (44%). Entre 1997 e 1999 a mortalidade foi, respectivamente, de 11 pacientes (34%), dois pacientes (66%) e dois pacientes (66%) para os grupos HIV+, IC e ID. Finalmente, a partir do ano 2000, a mortalidade para os grupos HIV+, IC e ID foi de 33 pacientes (28%), cinco pacientes

(33%) e três pacientes (33%), respectivamente. A diferença na mortalidade entre estes três períodos, no entanto, foi estatisticamente significativa para o grupo HIV+ ($p=0,02$) mas não para os grupos ID ($p=0,59$) ou IC ($p=0,49$).

Em contrapartida, a mortalidade do grupo CECG permaneceu relativamente estável nestes períodos; um paciente (25%) faleceu até 1996, nenhum entre 1997 a 1999 e dois pacientes (22%) faleceram após o ano 2000. Seguindo as tendências apresentadas pelos grupos de acordo com o estado imunológico, a mortalidade no grupo CECN também diminuiu; houve óbito de 35 pacientes (53%) na era pré-TARV, de 15 pacientes (38%) entre 1997 e 1999 e de 39 pacientes (30%) após o ano 2000. A diferença na mortalidade entre estes três períodos, no entanto, foi estatisticamente significativa para o grupo CECN ($p=0,01$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre a mortalidade até o ano 1996 e aquela após o ano 2000 para o grupo CECG ($p=0,92$).

Considerando todos os pacientes sem distinção de grupo, a mortalidade caiu ao longo dos três períodos. Houve 36 (51,4%) óbitos até 1996, 14 (37,8%) entre 1997 e 1999 e 42 (30,4%) após o ano 2000 ($p=0,01$).

O tempo de sobrevida da internação até o óbito, porém, permaneceu estável entre estes períodos para o grupo HIV+. Considerando o período de 1983 a 1996, de 1997 a 1999 e de 2000 a 2013, o tempo mediano (IQR) em dias de sobrevida para cada grupo foi respectivamente: 21 (12; 43), 26 (18; 113) e 15 (7; 53) dias para o grupo HIV; 61 (43; 84), média de 110 (mínimo: 97; máximo: 123) e 27 (26; 61) dias para o grupo ID e 49 (26; 69), média de 23 (mínimo: 16; máximo: 31) e 58 (32; 74) dias para o grupo IC. Considerando todos os pacientes, não houve diferença no tempo de sobrevida nos três períodos analisados ($p=1,0$). Não houve diferença no tempo de sobrevida nos três períodos analisados para os grupos HIV+ ($p=1,0$), ID ($p=0,195$) ou IC ($p=0,46$). Tampouco houve diferença de sobrevida entre os grupos HIV+, ID e IC considerando todos os períodos juntos ($p=1,0$).

Apenas um paciente faleceu no grupo CECG antes de 1996 (HIV+, 97 dias de sobrevida), nenhum paciente faleceu entre 1997 e 1999 e dois pacientes faleceram após o ano 2000 (32 e 74 dias de sobrevida) ($p=\text{não aplicável}$). A sobrevida mediana (IQR) no grupo CECN foi de 25 (13; 57), 27 (18; 110) e 17 (7; 69) dias para os períodos antes de 1996, entre 1997 e 1999 e após o ano 2000, respectivamente ($p=1,0$).

O único paciente que faleceu antes de 1996 no grupo CECG era do grupo HIV+, estava em uso de zidovudina e didanosina além de fluconazol, sulfametoxazol e trimetoprima profiláticos (contagem de células CD4+ na admissão de 120/mm³), este paciente sobreviveu 97 dias após a internação. Os outros dois pacientes do grupo CECG que faleceram eram imunocompetentes e apresentaram meningite após o ano 2000.

FIGURA 3 - CURVA DE SOBREVIVÊNCIA DE KAPLAN-MEYER DOS GRUPOS HIV+, IC E ID.

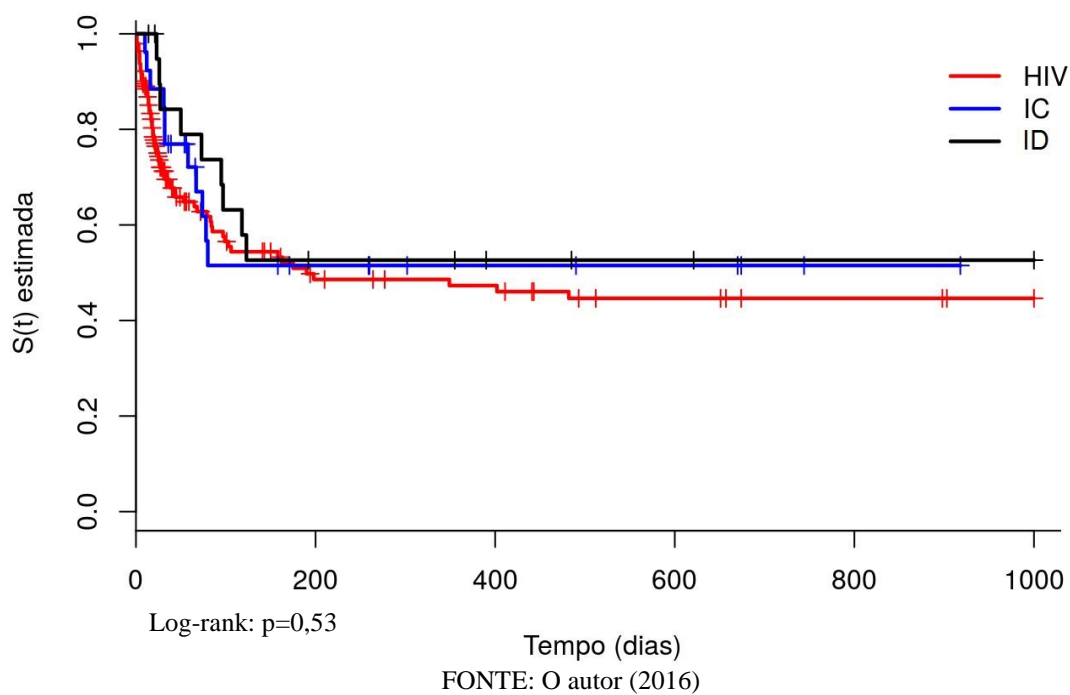
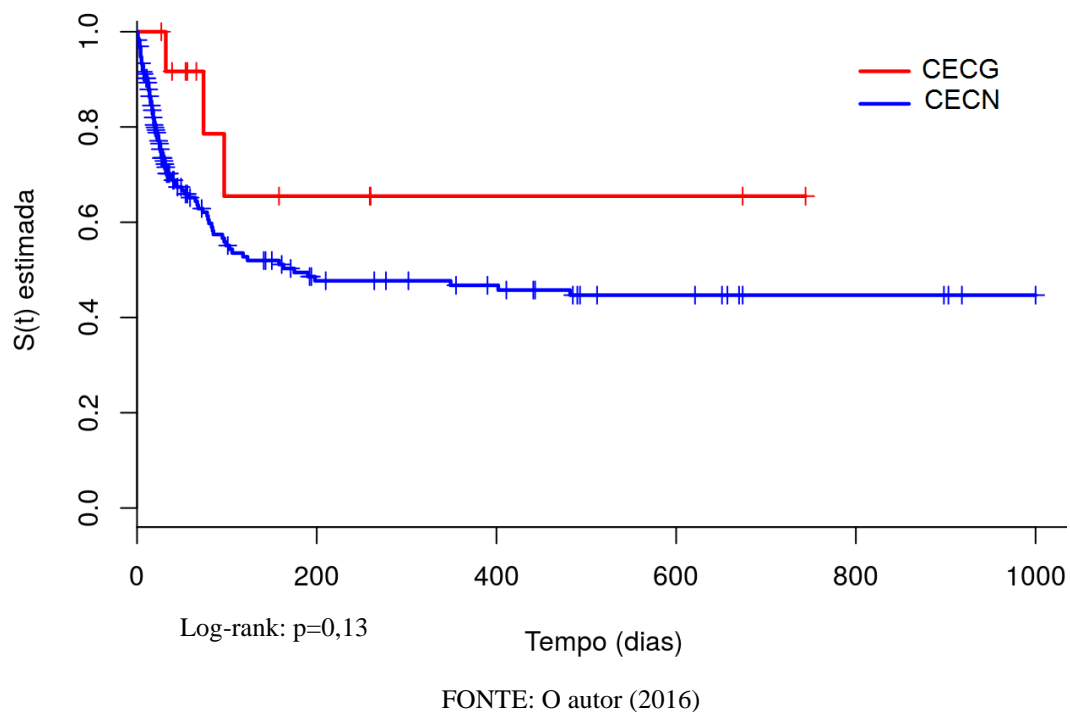


FIGURA 4 - CURVA DE SOBREVIVÊNCIA DE KAPLAN-MEYER DOS GRUPOS CECG E CECN.



Entre os pacientes HIV+, a mortalidade entre os pacientes que usavam TARV no diagnóstico foi de 17 pacientes (26%) e entre aqueles que não estavam em uso de TARV foi de 55 pacientes (40,7%) ($p=0,03$).

A sobrevida mediana (IQR) dos pacientes que foram a óbito e já estavam em tratamento antirretroviral foi de 19 dias (7; 38) e daqueles que não estavam em tratamento foi de 18 dias (9;97) ($p=0,77$).

Entre todas as características clínicas analisadas, apenas a presença de rigidez de nuca ($p=0,01$) e rebaixamento do nível de consciência ($p=0,03$) foram mais frequentes entre os pacientes que morreram. As características clínicas da admissão dos pacientes que foram a óbito e que sobreviveram estão na TABELA 16.

Considerando os resultados da imagem encefálica de admissão, apenas a presença de hidrocefalia foi mais frequente entre os pacientes que morreram ($p=0,008$). Os resultados da imagem encefálica realizada na admissão dos pacientes que foram a óbito e que sobreviveram estão na TABELA 17.

Em relação à imagem pulmonar de admissão, não houve diferença estatisticamente significativa entre pacientes que foram a óbito e que faleceram no que se refere à frequência de lesões do tipo massa ($p=0,64$), micronodular ($p=1,0$) ou nodular ($p=0,08$). Entre os pacientes que foram a óbito, um (2,9%), três (8,8%) e um (2,9%) pacientes apresentaram lesões do tipo massa, micronodular e nodular, respectivamente. Entre os pacientes que sobreviveram, quatro (7,5%), quatro (7,5%) e oito (15%) apresentaram estes tipos de lesões, respectivamente.

Com o objetivo de analisar a relação das características líquóricas com a mortalidade ou sobrevida, comparamos o LCR de admissão dos pacientes que sobreviveram com aquela dos pacientes que foram a óbito (TABELA 18). Em seguida fizemos uma comparação semelhante porém em relação ao LCR do desfecho para estes pacientes (TABELA 19).

Além disso, comparamos o LCR da admissão com o LCR do desfecho dos pacientes que foram a óbito (TABELA 20) e daqueles que sobreviveram (TABELA 21).

Não houve diferença na frequência de criptococose em outro sítio ($p=0,49$), cultura positiva para *Cryptococcus* spp. no sangue ($p=0,68$) ou evidência de criptococose pulmonar ($p=1,0$) entre os pacientes que faleceram ou sobreviveram.

Não houve diferença estatisticamente significativa no hemograma de admissão dos pacientes que foram a óbito ou sobreviveram em relação à hemoglobina ($p=0,53$), hematócrito ($p=0,5$), contagem de linfócitos ($p=0,4$), plaquetas ($p=0,64$) ou percentagem de bastões ($p=0,13$). Porém os pacientes que sobreviveram tinham menor contagem de leucócitos ($p=0,009$).

A comparação do hemograma do desfecho mostrou maiores valores na contagem de plaquetas ($p=0,00037$) e menores valores na contagem de leucócitos ($p<0,0001$) e na percentagem de bastões ($p<0,0001$) para os pacientes que sobreviveram. Não houve diferença estatisticamente significativa no último hemograma dos pacientes que foram a óbito ou que sobreviveram em relação à hemoglobina ($p=0,1$), hematócrito ($p=0,18$) ou percentagem de linfócitos ($p=0,09$).

TABELA 16 - SINAIS E SINTOMAS PRESENTES NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS PACIENTES QUE FORAM A ÓBITO E DAQUELES QUE SOBREVIVERAM.

n	Óbito 91	Sobreviva 150	(p)
Cefaleia	68 (74)	127 (84)	0,56
Febre	43 (47)	73 (48,6)	0,83
Temperatura em °C^a	38,3 (38; 39)	38,7 (38; 39)	0,85
Duração^a	6,5 (2,2; 14,8)	6 (3; 9,5)	0,93
Rigidez de nuca	28 (30,7)	38 (25,3)	0,01
Rebaixamento do nível de consciência	18 (19,8)	15 (10)	0,03
Duração^a	2 (1; 6,3)	3 (2,5; 5)	0,09
Escore de Glasgow^a	14 (12; 15)	15 (14; 15)	0,056
Emagrecimento	31 (34)	49 (32,6)	0,82
Peso em Kg^a	10 (6; 15)	9 (6; 14)	0,73
Tempo^a	60 (30; 90)	60 (30;90)	0,75
Déficit neurológico focal	23 (25,2)	29 (19,3)	0,27
Crises epilépticas	4 (4,4)	6 (4)	0,88

Dados apresentados em n(%), exceto quando especificado de outra forma.

a – Dados apresentados em mediana (IQR).

TABELA 17 - RESULTADOS DA PRIMEIRA IMAGEM ENCEFÁLICA REALIZADA NA ADMISSÃO DOS PACIENTES QUE FORAM A ÓBITO E DAQUELES QUE SOBREVIVERAM.

n	Óbito 66	Sobreviva 107	(p)
Normal	20 (30,3)	43 (40,2)	0,18
Calcificações	9 (13,6)	10 (9,3)	0,38
Lesão de substância branca	1 (1,5)	2 (1,8)	1,0
Lesão hiper^a	1 (1,5)	2 (1,8)	1,0
Lesão hipo^b	20 (30,3)	25 (23,3)	0,31
Hidrocefalia	15 (22,7)	9 (8,4)	0,008
Lesão captante de contraste	4 (6)	4 (3,7)	0,48
Criptocoma	1 (1,5)	4 (3,7)	0,65
Atrofia	15 (22,7)	26 (24,3)	0,81
Edema	3 (4,5)	4 (3,7)	1,0

Todos os resultados foram descritos em n(%).

a – lesão hiperdensa na tomografia computadorizada ou hiperintensa em FLAIR, na ressonância magnética.

b – lesão hipodensa na tomografia computadorizada ou hipointensa em FLAIR, na ressonância magnética.

TABELA 18 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS DO LCR DA ADMISSÃO DOS PACIENTES QUE FORAM A ÓBITO E DAQUELES QUE SOBREVIVERAM.

n	Óbito 90	Sobrevida 152	(p)
PI - mmH ₂ O	300 (220;490)	330 (260; 480)	0,7
Índice de cor	0 (0; 0,1)	0 (0; 0)	0,0122
Hemácias - cél/mm ³	2,5 (0,3; 50)	5,1 (1,1; 60)	0,035
Células - cél/mm ³	13,6 (2,5; 106,2)	30 (7,8; 97,5)	0,08
Linfócitos ^a - %	84 (51; 94,5)	87 (62; 95)	0,47
Neutrófilos ^a - %	11,5 (3; 58)	9 (3; 30)	0,9
Monócitos ^a - %	6 (4; 17,5)	5,5 (2; 12,5)	0,52
Macrófagos ^a - %	1 (0,5; 2)	0 (0; 1,5)	0,1
Eosinófilos ^a - %	2,5 (1; 3)	1 (0; 1)	0,09
Proteína - mg/dL	82,3 (39,1; 164,5)	83,1 (47,5; 140,5)	0,56
Glicose - mg/dL	34 (18; 50)	38 (24,5; 50)	0,46
Lactato - mg/dL	4,2 (2,7; 5,6)	3,7 (2,2; 5,5)	0,65
Látex - Título, 1:	550 (10; 10000)	1000 (100; 5900)	0,6
Latex Positivo n(%)	33 (94,3)	44 (97,7)	0,57
Micológico direto positivo n(%)	59 (78,6)	105 (82)	0,58

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

a- porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

PI: pressão inicial.

Látex - teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico.

TABELA 19 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS DO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES QUE FORAM A ÓBITO E DAQUELES QUE SOBREVIVERAM.

n	Óbito 59	Sobrevida 114	(p)
PI - mmH ₂ O	350 (217; 550)	195 (135; 250)	0,0007
Índice de cor	0,3 (0; 0,4)	0 (0; 0,3)	0,02
Hemácias - cél/mm ³	3 (0,45; 61)	3,8 (1; 51,75)	0,41
Células - cél/mm ³	12 (3,4; 51,7)	17 (3,2; 63,5)	0,8
Linfócitos ^a - %	78,5 (47; 94)	90 (67; 95,6)	0,1
Neutrófilos ^a - %	13 (5; 44)	4 (1; 23,5)	0,042
Monócitos ^a - %	10 (4; 19,5)	6 (2,5; 15)	0,11
Macrófagos ^a - %	0,5 (0; 8,5)	0 (0; 1)	0,39
Eosinófilos ^a - %	1 (0; 2,5)	1 (0; 1,5)	0,75
Proteína - mg/dL	64,5 (35,5; 136,5)	71,7 (39,6; 126)	0,91
Glicose- mg/dL	38 (24,5; 59,5)	43 (32,5; 51)	0,91
Lactato - mg/dL	4,8 (2,6; 7,6)	2,6 (2; 3,8)	0,13
Látex- Título, 1:	756 (82; 10000)	100 (100; 1000)	0,38
Latex - Positivo n(%)	17 (81)	29 (82,8)	1,0
Micológico direto - positivo n(%)	32 (69,5)	30 (42,2)	0,004

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

a- porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

PI: pressão inicial

Látex - teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico.

TABELA 20 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS DO LCR DA ADMISSÃO E DO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES QUE FORAM A ÓBITO.

n	Óbito – LCR da admissão 90	Óbito – LCR do desfecho 59	(p)
PI - mmH ₂ O	300 (220;490)	350 (217; 550)	0,26
Índice de cor	0 (0; 0,1)	0,3 (0; 0,4)	0,12
Hemácias - cél/mm ³	2,5 (0,3; 50)	3 (0,45; 61)	0,8
Células - cél/mm ³	13,6 (2,5; 106,2)	12 (3,4; 51,7)	0,15
Linfócitos^a - %	84 (51; 94,5)	78,5 (47; 94)	0,67
Neutrófilos^a - %	11,5 (3; 58)	13 (5; 44)	0,38
Monócitos^a - %	6 (4; 17,5)	10 (4; 19,5)	0,62
Macrófagos^a - %	1 (0,5; 2)	0,5 (0; 8,5)	0,07
Eosinófilos^a - %	2,5 (1; 3)	1 (0; 2,5)	0,25
Proteína - mg/dL	82,3 (39,1; 164,5)	64,5 (35,5; 136,5)	0,76
Glicose - mg/d	34 (18; 50)	38 (24,5; 59,5)	0,11
Lactato – mg/dL	4,2 (2,7; 5,6)	4,8 (2,6; 7,6)	1
Latex – Título, 1:	550 (10; 10000)	756 (82; 10000)	0,6
Latex – Positivo n(%)	33 (94,3)	17 (81)	0,18
Micológico direto – Positivo n(%)	59 (78,6)	32 (69,5)	0,26

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

Valor de p determinado através do teste de Wilcoxon

PI: pressão inicial

Látex – teste de aglutinação de partículas látex para antígeno criptocócico.

a– porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

TABELA 21 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, CITOQUÍMICAS E MICOLÓGICAS DO LCR DA ADMISSÃO E DO LCR DO DESFECHO DOS PACIENTES QUE SOBREVIVERAM.

n	Sobrevida – LCR da admissão 152	Sobrevida – LCR do desfecho 114	(p)
PI - mmH ₂ O	330 (260; 480)	195 (135; 250)	0,08
Índice de cor	0 (0; 0)	0 (0; 0,3)	0,0194
Hemácias - cél/mm ³	5,1 (1,1; 60)	3,8 (1; 51,75)	0,5
Células - cél/mm ³	30 (7,8; 97,5)	17 (3,2; 63,5)	0,0091
Linfócitos^a - %	87 (62; 95)	90 (67; 95,6)	0,53
Neutrófilos^a - %	9 (3; 30)	4 (1; 23,5)	0,13
Monócitos^a - %	5,5 (2; 12,5)	6 (2,5; 15)	0,77
Macrófagos^a - %	0 (0; 1,5)	0 (0; 1)	1,0
Eosinófilos^a - %	1 (0; 1)	1 (0; 1,5)	0,25
Proteína - mg/dl	83,1 (47,5; 140,5)	71,7 (39,6; 126)	0,3
Glicose - mg/dL	38 (24,5; 50)	43 (32,5; 51)	0,55
Lactato – mg/dL	3,7 (2,2; 5,5)	2,6 (2; 3,8)	0,0068
Latex – Título, 1:	1000 (100; 5900)	100 (100; 1000)	0,6
Latex – Positivo n(%)	44 (97,7)	29 (82,8)	0,03
Micológico direto – Positivo n(%)	105 (82)	30 (42,2)	<0,0001

Resultados descritos em mediana (IQR) exceto quando especificado de outra forma.

Valor de p determinado através do teste de Wilcoxon

PI: pressão inicial

Látex – teste de aglutinação de partículas látex para antígeno criptocócico.

a– porcentagem mediana encontrada na citologia diferencial.

6.9. Outras particularidades dos grupos

6.9.1. Hemograma

O hemograma inicial estava disponível no prontuário de 189 (94,5%) pacientes do grupo HIV+, 20 (95,2%) pacientes do grupo ID, 26 (100%) pacientes do grupo IC, Considerando-se todos os pacientes, os valores em mediana (IQR) de hemoglobina e hematócrito foram 11,6g/dL (10,3; 13,7) e 34,7% (30,2; 39,8) respectivamente. A contagem leucocitária total foi de 4900/mm³ (3600; 7800) com 765/mm³ (481; 1074) linfócitos e 9% (5; 15) de bastonetose. A contagem plaquetária mediana (IQR) foi de 191000/mm³ (130750; 249250). As TABELAS 22 e 23 mostram os valores do hemograma inicial de acordo com o grupo, por estado imunológico e por CE infectante.

TABELA 22 - VALORES DO HEMOGRAMA DA ADMISSÃO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.

n	HIV + 189	ID 20	IC 26	(p)
Hemoglobina (g/dL)	11,4 (10; 13)	11,6 (10,8; 14,7)	14,4 (12,6; 15,7)	<0,0001 HIVvsIC p<0,00001 HIVvsID p=0,19 ICvsID p=0,0069
Hematócrito (%)	33,8 (29,6; 38,7)	34,1 (29,6; 42,3)	42 (36,9; 45,8)	0,0001 HIVvsIC p<0,00001 HIVvsID p=0,42 ICvsID p=0,0018
Leucócitos(/mm ³)	4500 (3300; 6400)	7920 (4600; 10910)	9520 (7400; 12410)	<0,0001 HIVvsIC p<0,0001 HIVvsID p<0,0001 ICvsID p=0,181
Linfócitos (/mm ³)	722 (399; 969)	1021 (683; 1859)	1320 (750; 1616)	<0,0001 HIVvsIC p<0,0001 HIVvsID p=0,001 ICvsID p=0,58
Bastões (%)	10 (6; 16)	8,5 (3,8; 13)	6,5 (4; 11,5)	0,09
Plaquetas (/mm ³)	184000 (128500; 225000)	198000 (114500; 315750)	276000 (204500; 299500)	0,0083 HIVvsIC p=0,0023 HIVvsID p=0,34 ICvsID p=0,135

Valores apresentados em mediana (IQR).

TABELA 23 - VALORES DO HEMOGRAMA DA ADMISSÃO, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.

n	CECG 13	CECN 222	(p)
Hemoglobina (g/dL)	14,5 (12,5; 15,7)	11,5 (10; 13,4)	0,00057
Hematócrito (%)	43,2 (36,1; 43,7)	34 (29,9; 39,3)	0,0012
Leucócitos (/mm ³)	8100 (6500; 10700)	4800 (3500; 1040)	0,00078
Linfócitos (/mm ³)	1440 (965; 1815)	751 (454; 1040)	0,00097
Bastões (%)	6 (4; 10)	9 (5; 16)	0,056
Plaquetas (/mm ³)	276500 (265750; 296500)	187000 (122500; 236750)	0,005

valores apresentados em mediana (IQR).

O último hemograma disponível no prontuário antes do desfecho (morte, cura, alta ou perda de seguimento) foi registrado. A comparação entre os resultados deste hemograma entre os pacientes de acordo com o estado imunológico ou complexo de espécies está apresentada nas TABELAS 24 e 25.

TABELA 24 - VALORES DO HEMOGRAMA DO DESFECHO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE

n	HIV + 172	ID 20	IC 26	(p)
Hemoglobina (g/dL)	9,7 (8,5; 11,1)	10,2 (9;12)	11,8 (8,6; 13)	0,028 HIVvsIC p=0,015 HIVvsID p=0,15 ICvsID p=0,54
Hematócrito (%)	28,6 (25,2; 33)	31,5 (26,5; 38,4)	34,6 (26,4; 36,6)	p=0,022 HIVvsIC p=0,019 HIVvsID p=0,07 ICvsID p=0,82
Leucócitos(/mm ³)	4650 (3067; 7025)	7850 (5050; 9825)	8620 (7122; 11875)	<0,0001 HIVvsIC p<0,00001 HIVvsID p=0,0025 ICvsID p=0,122
Linfócitos (/mm ³)	727 (420; 1130)	1300 (933; 1806)	1443 (1077; 2312)	<0,0001 HIVvsIC p<0,00001 HIVvsID p=0,0001 ICvsID p=0,64
Bastões (%)	8 (4; 15)	10 (7,5; 11)	8 (4; 13)	0,86
Plaquetas (/mm ³)	155000 (96000; 265000)	167500 (122750; 189000)	253000 (140000; 301000)	0,11

Valores descritos em mediana (IQR).

TABELA 25 - VALORES DO HEMOGRAMA DO DESFECHO, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.

n	CECG 13	CECN 204	(p)
Hemoglobina (g/dL)	11,4 (8,2; 12,1)	9,8 (8,5; 11,5)	0,39
Hematócrito (%)	31,9 (25,4; 35,2)	29 (25,4; 34,3)	0,52
Leucócitos (/mm ³)	7460 (6800; 10990)	5000 (3400; 8400)	0,0057
Linfócitos (/mm ³)	1491 (1219;2085)	812 (462; 1292)	0,000835
Bastões (%)	5 (2; 10)	8 (5; 15)	0,11
Plaquetas (/mm ³)	260000 (234000; 291000)	161000 (97000; 266500)	0,068

Valores descritos em mediana (IQR).

6.9.2. Tratamento

Os antifúngicos mais comumente utilizados para o tratamento da meningite criptocócica foram a anfotericina B e o fluconazol. Ao todo, 211(85%) pacientes receberam anfotericina B, com mediana (IQR) de dose acumulada de 560mg (293,75; 1000) ao longo de 16,5 dias (10; 29,5). Destes, 19 (7,7%) pacientes voltaram a apresentar quadro compatível com meningite criptocócica após 1 mês da última dose de anfotericina B e necessitaram de um segundo ciclo de tratamento com esta medicação. Quinze (7,5%) do grupo HIV+, quatro (15,4%) do grupo IC e um (7,1%) do grupo CECG. Destes, três (1,5%) pacientes do grupo HIV+ necessitaram de um 3º ciclo de anfotericina B. Um (3,8%) paciente do grupo IC e um (0,5%) do grupo HIV+ necessitaram de quatro ciclos de anfotericina B. A dose acumulada e duração total do tratamento dos pacientes que necessitaram de mais de um ciclo de tratamento com anfotericina B foi respectivamente de 1277,5mg (980; 2910) e 53 dias (35; 104) em mediana (IQR). As TABELAS 26 E 27 mostram os principais antifúngicos usados por grupo, de acordo com o estado imunológico e complexo de espécies infectante, respectivamente. O Anexo D detalha o tratamento dos pacientes documentado em prontuário, de acordo com os grupos.

TABELA 26 - USO DOS ANTIFÚNGICOS ANFOTERICINA B E FLUCONAZOL, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO DO PACIENTE.

	HIV +	ID	IC	(p)
Anfotericina B - n(%)	172 (86)	14 (66,6)	24 (92,3)	0,049
Dose acumulada – mg ^a	550 (250; 873)	1000 (600; 1050)	1100 (530; 1887,5)	0,0018
				HIV+ vs IC= 0,03
				HIV+ vs ID – 0,0018
				ID vs IC – 0,0026
Dias de tratamento ^a	15 (7; 27)	23 (13; 30)	24,5 (16; 63)	0,004
Fluconazol 400-1200mg/d, n(%)	116 (56)	10 (58)	13 (50)	0,53
Dias de tratamento ^a	21 (9,5; 63)	46 (22; 305)	60 (19; 128)	0,15
Fluconazol 100-300mg/d, n(%)	44 (22)	7 (33,3)	8 (30,7)	
Dias de tratamento ^a	27 (15; 163)	27 (20; 68)	78 (36; 202)	0,84

a - Mediana (IQR)

TABELA 27 - USO DOS ANTIFÚNGICOS ANFOTERICINA B E FLUCONAZOL, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.

	CECG	CECN	(p)
Anfotericina B n(%)	12 (85,7)	198 (84,9)	1,0
Dose acumulada – mg ^a	950 (530; 1455)	550 (282,5; 980)	0,02
Dias de tratamento ^a	29 (16; 43)	16 (9; 27)	0,09
Fluconazol 400-1200mg/d, n(%)	6 (42,8)	133 (57)	0,40
Dias de tratamento ^a	65 (30; 134)	21 (10; 73,7)	0,09
Fluconazol 100-300mg/d, n(%)	4 (28,5%)	56 (24%)	
Dias de tratamento ^a	202 (105; 475)	29 (15; 154)	0,09

a - Mediana (IQR)

7. DISCUSSÃO

7.1. Epidemiologia

O CE *C. neoformans* foi o complexo de espécies predominante entre nossos pacientes. O grupo de pacientes afetados pelo CE *C. gattii*, era constituído principalmente por indivíduos HIV negativos sem outras causas de imunodepressão. Esses resultados estão em concordância com estudos anteriores, que mostraram que a meningite pelo CE *C. gattii* é menos comum do que aquela causada pelo CE *C. neoformans* (CHAN et al., 2014; HASIMOTO E SOUZA et al., 2013; LINDENBERG ADE et al., 2008; NIGAM et al., 2012; SMITH et al., 2015) e que quando ocorre, ela afeta sobretudo indivíduos imunocompetentes (CHAN et al., 2014; LINDENBERG ADE et al., 2008; LIZARAZO, ESCANDON, AGUDELO, FIRACATIVE et al., 2014; SMITH et al., 2015).

A frequência de meningite criptocócica no CHC-UFPR aumentou durante os primeiros 13 anos estudados, sobretudo na década de 90, concomitantemente ao surgimento da epidemia de HIV no Brasil (BRITO et al., 2000). Após a implementação da Lei federal 9313, em 13 de novembro de 1996 (BRASIL, 1996), o tratamento com antirretrovirais (ARV) passou a ser disponibilizado gratuitamente no SUS (DO LAGO e COSTA NDO, 2010). Possivelmente esta é a explicação para a queda de 62% no número de casos internados no ano de 1997 em relação ao ano de 1996. Ao longo dos anos seguintes observou-se um novo aumento do número de casos em relação ao ano imediatamente anterior. Porém, foi apenas no ano 2000 que o número de casos registrados no HC-UFPR voltou a atingir o clímax, novamente com 16 casos. Nos 13 anos seguintes observamos uma queda irregular no número de casos diagnosticados por ano, contudo sem voltar aos 16 casos vistos nos anos de 1996 e 2000. Mais uma vez, a frequência de casos HIV+ encontrados neste estudo parece se correlacionar com a evolução do tratamento do HIV no Brasil, pois foi apenas na década de 2000 que a terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) se tornou mais amplamente acessível no SUS e formalmente recomendada pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2004; DO LAGO e COSTA NDO, 2010; DOURADO et al., 2006; GRECO e SIMAO, 2007; RAMOS et al., 2011). O aumento do número de casos de meningite criptocócica durante os anos iniciais da epidemia de HIV no mundo (DROMER et al., 2004;

SARAIVA et al., 2015), e o seu declínio na era pós-HAART já foram descritos anteriormente (DROMER et al., 2004; MIRZA et al., 2003).

Na América do Norte, sobretudo na Columbia Britânica canadense e na costa pacífica dos Estados Unidos da América (EUA) observou-se um surto de infecções pelo CE *C. gattii* durante os anos 1999-2013 (CDC, 2011; KIDD et al., 2004). Embora a maior parte dos casos identificados nesta ocasião tenham sido de infecção respiratória, muitos pacientes apresentaram infecção meníngea (CDC, 2011; GALANIS et al., 2010). Neste estudo, a frequência de meningite criptocócica pelo CE *C. gattii* permaneceu estável ao longo dos 30 anos avaliados, com no máximo dois casos nos anos de maior frequência. Este estudo mostra resultados semelhantes aos de Smith et al, 2015, que descreveu uma incidência estável na Alemanha entre os anos de 2004 e 2013, com apenas quatro pacientes acometidos por este patógeno, todos eles apresentando infecção do sistema nervoso central (SMITH et al., 2015).

Após o surto na costa pacífica, outros casos de infecção pelo CE *C. gattii* em vários sítios incluindo SNC foram identificados nos EUA. Em ambos os países o genótipo do CE *C. gattii* mais frequentemente identificado foi o VGIIa (BARTLETT et al., 2012; ESPINEL-INGROFF e KIDD, 2015; LOCKHART et al., 2013).

7.1.1. Sexo

Houve predomínio masculino em todos os grupos. Entre os grupos de acordo com o estado imunológico, aqueles com maior e menor proporção de pacientes do sexo masculino foram o grupo HIV+ e o ID, respectivamente. Houve maior proporção de pacientes do sexo masculino no grupo CECG do que no CECN, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa. O predomínio do sexo masculino já foi descrito tanto em pacientes HIV positivos quanto HIV negativos (LEE, Y. C. et al., 2011; LIAO et al., 2012; NIGAM et al., 2012; OKAMOTO et al., 2010; ZHONG et al., 2014).

Entre os casos de criptococose por CE *C. gattii* (genótipo VGIIa) da costa pacífica, não houve um predomínio de sexo entre os pacientes acometidos (BARTLETT et al., 2012; CDC, 2011), porém nos casos relatados em outras localidades nos EUA, 84% dos pacientes eram do sexo masculino. Porém nenhum deles foi acometido pelo mesmo genótipo do CE *C. gattii* encontrado no surto da Columbia Britânica (HARRIS et al., 2013).

O predomínio do sexo masculino entre os pacientes acometidos por meningite criptocócica do grupo HIV+ pode ser ao menos parcialmente explicado pelo predomínio do sexo masculino entre os pacientes soropositivos para HIV. Embora a razão entre homens e mulheres acometidos pelo vírus HIV tenha caído de 18,9:1 em 1984 para 1,5:1 em 2004 (DOURADO et al., 2006), esta razão tem permanecido estável no sul do Brasil ao longo dos últimos 10 anos (BRASIL, 2014).

Por outro lado, o sexo do hospedeiro talvez seja de fato relevante na patogênese da meningite criptocócica uma vez que o estrógeno mostrou-se um inibidor do crescimento criptocócico *in vitro* (MOHR et al., 1972). Além disso, os macrófagos masculinos mostraram-se mais vulneráveis à morte e mais propensos a apresentar uma alta carga fúngica durante a infecção pelo *Cryptococcus* spp. (MCCLELLAND et al., 2013).

7.1.2. Idade

Os pacientes do grupo CECG apresentaram uma mediana de idade maior do que os pacientes do grupo CECN, semelhante ao relatado por um estudo sobre pacientes acometidos pelo CE *C. gattii* conduzido na Alemanha (SMITH et al., 2015). Os pacientes dos grupos ID e IC apresentaram uma mediana de idade maior do que os pacientes HIV positivos. Este dado também está em consonância com dados previamente publicados (CHAN et al., 2014; LEE, Y. C. et al., 2011; LIAO et al., 2012).

Um estudo conduzido no Brasil avaliou a epidemiologia da meningite criptocócica no estado do Rio de Janeiro; ao todo, 696 casos foram encontrados ao longo de 10 anos (1994-2004) (LEIMANN e KOIFMAN, 2008). Neste estudo, os pacientes eram predominantemente do sexo masculino, com idade mediana de 35,9 anos e AIDS era a doença de base em 61,2% dos casos (LEIMANN e KOIFMAN, 2008). Em nosso estudo, a sorologia positiva para o HIV também foi a principal condição de base encontrada. A idade mediana encontrada entre os pacientes HIV+ e a idade mediana entre todos os 247 pacientes estudados foi muito próxima àquela encontrada entre os pacientes do Rio de Janeiro (LEIMANN e KOIFMAN, 2008).

7.1.3. Geoprocessamento descritivo

No mapa plotado em nosso trabalho, observou-se uma associação entre a distribuição geográfica de pombos e de pacientes com diagnóstico de meningite pelo CE *C. neoformans*. Por outro lado, os pacientes acometidos pelo CE *C. gattii* não estiveram distribuídos próximos às maiores concentrações de árvores da cidade, mas sim próximos a vastas regiões não construídas e sem arborização. A relação entre casos de criptococose e os principais nichos ecológicos do complexo de espécies *C. neoformans/C. gattii* é explorada frequentemente na literatura científica. Entretanto, a metodologia utilizada nestes estudos é a pesquisa de culturas positivas para *Cryptococcus* spp. provenientes de amostras ambientais próximas aos casos de meningite (ELLIS e PFEIFFER, 1990; KIDD et al., 2007). Alternativamente, outros estudos avaliaram a presença de culturas positivas para *Cryptococcus* spp. em amostras ambientais mas não correlacionaram com uma maior frequência de casos de infecção por este fungo na região em que as amostras foram coletadas (GRANADOS e CASTANEDA, 2005; KOBAYASHI et al., 2005; LUGARINI et al., 2008). Ao plotarmos um mapa com a distribuição dos casos de meningite criptocócica, as populações de árvores e pombos de uma cidade podemos observar qual a influência destes potenciais nichos na frequência local de casos.

É interessante lembrar que as características de Curitiba, cidade onde a relação entre a distribuição de pacientes acometidos por meningite criptocócica, pombos e árvores foram estudados, também podem influenciar o desenvolvimento do *Cryptococcus* spp. no ambiente. As condições climáticas locais podem ser um fator influenciador da concentração de CE *C. gattii* encontrados no solo, ar e árvores (UEJIO et al., 2015). Observou-se que temperaturas elevadas e dias com vento estiveram associados a uma menor concentração de CE *C. gattii* encontrados em amostras ambientais, enquanto que a maior exposição solar foi associada a uma maior concentração encontrada do fungo (UEJIO et al., 2015). Um outro estudo mostrou a predileção dos CE *C. neoformans/C. gattii* a temperaturas entre 12 a 18°C e altas altitudes (2000 a 3000 metros acima do nível do mar) (QUINTERO et al., 2005). Curitiba é considerada uma cidade fria para os padrões brasileiros, com uma temperatura média de 13 a 21°C, apresenta um clima subtropical e está localizada a 945 metros acima do nível do mar (CURITIBA). Portanto, estas características poderiam

favorecer a proliferação de *Cryptococcus* spp. em relação a outras cidades brasileiras. Entretanto, seus poucos dias de sol entremeados a muitos dias úmidos e cinzentos responsáveis pelos 1500mm/ano de pluviosidade (CURITIBA), provavelmente ajudam a equilibrar o crescimento deste fungo.

Em um modelo murino, uma maior umidade relativa do ar levou a um aumento na concentração tanto de células criptocócicas desidratadas quanto na retenção destas células no pulmão dos ratos (SPRINGER et al., 2013). Assim, embora habitantes de cidades secas talvez estejam expostos mais comumente a células criptocócicas secas, os curitibanos que estiverem próximos a uma fonte de *Cryptococcus* spp. talvez estejam expostos a uma maior concentração de células devido à elevada umidade relativa do ar mediana desta cidade (85% no ano de 2015) (BRASIL, 2016).

Embora os pombos não sejam carreadores naturais do CE *C. neoformans* (EMMONS, 1955), este fungo comumente cresce como saprófita na excreta de pombos (KOBAYASHI et al., 2005; TAKAHARA et al., 2013) e de outros pássaros (FILIU et al., 2002), particularmente quando secos (FILIU et al., 2002; GRANADOS e CASTANEDA, 2005; KHAN et al., 1978). Além disso, os CE *C. neoformans*/*C. gattii* já foram isolados a partir de amostras de outros materiais secos, como o solo (EMMONS, 1951), poeira de casas de madeira no estado do Amazonas (BRITO-SANTOS et al., 2015), e poeira de uma biblioteca brasileira (LEITE et al., 2012). A incubação em solo seco leva ao crescimento de células criptocócicas de menor diâmetro, possivelmente aumentando a probabilidade de aerossolização e consequentemente de aspiração (NEILSON et al., 1977). Como uma cidade úmida e com chuvas frequentes, solo seco ou poeira são mais escassos do que em cidades mais secas e ensolaradas.

CE *C. gattii* foi isolado pela primeira vez de amostras ambientais provenientes de *Eucalyptus camaldulensis* por Ellis e Pfeiffer (1990), que encontraram uma relação geográfica entre a distribuição desta árvore e os pacientes australianos acometidos pela meningite criptocócica (ELLIS e PFEIFFER, 1990). Na América Latina, os CE *C. neoformans*/*C. gattii* já foram isolados a partir de várias árvores, incluindo o eucalipto (CATTANA et al., 2014). Porém até o momento não há relatos de isolamento deste fungo em amostras provenientes de araucárias ou bracatinga, as duas espécies predominantes de acordo com o levantamento tipológico de Curitiba (MIGUEZ, 2001). Um estudo colombiano investigou a presença de *Cryptococcus* spp em excretas de aves,

buracos e cascas de árvores, árvores com ninhos de passarinhos e solo próximo a árvores em espaços urbanos (GRANADOS e CASTANEDA, 2005). De todos os isolados criptocócicos encontrados em amostras vegetais, 99% eram do CE *C. gattii* e 1% do CE *C. neoformans* (GRANADOS e CASTANEDA, 2005). Todos os isolados de excretas de pássaros eram do CE *C. neoformans* (GRANADOS e CASTANEDA, 2005).

Um estudo conduzido no Brasil coletou 290 amostras de excretas de pombos encontradas no meio ambiente e de material associado a eucaliptos no estado de Goiás, porém nenhum dos 41 isolados criptocócicos era do CE *C. gattii* (KOBAYASHI et al., 2005).

Neste estudo, a maioria dos pacientes morava longe das áreas mais arborizadas localizadas nos parques ou nas fronteiras da cidade, portanto diminuindo a associação entre arborização e casos de meningite criptocócica. É importante ressaltar que não houve redução na arborização de Curitiba ao longo dos últimos 20 anos, data do primeiro caso de meningite criptocócica pelo CE *C. gattii* (MIGUEZ, 2001).

Foi possível identificar uma associação geográfica entre as populações de pombos identificadas e os pacientes afetados pelo CE *C. neoformans*, porém não entre pombos e pacientes afetados pelo CE *C. gattii*.

Por outro lado, um estudo realizado no Canadá isolou fungos do CE *C. gattii* a partir de diferentes amostras, incluindo locais próximos a residência de pacientes afetados pelo CE *C. gattii* (KIDD et al., 2007). O fungo foi isolado a partir de amostras de superfícies de árvores, solo, ar, água doce e salgada e sugeriu que o solo pode ser o principal reservatório do CE *C. gattii* ao encontra-lo mais comumente nos 15cm mais superficiais do solo do que em árvores (KIDD et al., 2007). Fazendo uma analogia com Curitiba, esta pode ser uma explicação para o fato de não encontramos uma associação clara entre árvores e os casos de meningite pelo CE *C. gattii* apesar da cidade ser considerada bem arborizada. Uma vez que oitenta e três por cento dos pacientes afetados pelo CE *C. gattii* moravam próximos a grandes áreas não arborizadas e não construídas, uma possível fonte de contato com solo e poeira pode ter sido o foco de contaminação.

Foi sugerido que a maior parte da população é exposta ao *Cryptococcus* spp. durante os primeiros anos de vida (GOLDMAN et al., 2001). Os esporos aspirados durante a infecção primária podem permanecer latentes por muitos anos (IDNURM et al., 2005), assim, os pacientes afetados por meningite criptocócica podem ter sido

infectados muito tempo antes da apresentação clínica da doença atual. No entanto, foram encontrados alguns agrupamentos de pacientes em algumas localidades da cidade, enquanto que outras regiões permaneceram livres de casos ao longo dos 30 anos estudados. Estes agrupamentos não parecem ser explicados pela densidade populacional, classe socioeconômica dos habitantes locais ou mesmo área de abrangência do CHC-UFPR.

A ocorrência de CE *C. neoformans* em Curitiba já foi pesquisada a partir de excreta de aves passeriformes e psitacíformes e comparada com algumas amostras de pacientes com infecção criptocócica no CHC-UFPR (LUGARINI et al., 2008). A proporção de culturas positivas foi maior para excreta de passeriformes (24,1% versus 1,4%, $p < 0,01$) e o tipo molecular de todas as amostras ambientais foi o mesmo que 24/25 das amostras clínicas estudadas (descritas como *C. neoformans* VNI/ α). Embora uma amostra clínica tenha sido identificada como *C. gattii* VGIII/a, nenhuma das 141 amostras ambientais foi positiva para o CE *C. gattii* (LUGARINI et al., 2008). O trabalho de Lugarini et al (2008) apresenta uma interseção com o presente trabalho, pois as amostras de excretas de aves que apresentaram cultura positiva para *Cryptococcus* spp. estavam entre as 146 culturas positivas que foram excluídas do atual trabalho por não pertencerem a pacientes do HC-UFPR. Alguns amostras clínicas avaliadas por Lugarini et al (2008) foram incluídas no presente trabalho. O trabalho de Lugarini et al (2008) reforça o fato de que os pombos não são o único tipo de ave cujas excretas estão relacionadas a fontes ambientais de *Cryptococcus* spp. Neste estudo não foi abordada a distribuição geográfica de todas as aves passeriformes ou psitacíformes e portanto não podemos inferir sobre a relação geográfica entre estas aves e os pacientes estudados. Por outro lado, o fato de que todas as amostras ambientais coletadas por Lugarini et al em Curitiba eram do mesmo tipo molecular dos pacientes do HC-UFPR, sugere que ou este é o tipo molecular predominante na cidade e ou que é possível que estes pacientes tenham se infectado após ter contato com excretas contaminadas. Por fim, nenhum CE *C. gattii* foi isolado a partir das amostras de Lugarini et al (2008). Isto pode estar associado à distribuição mais homogênea dos pacientes afetados pelo CE *C. gattii* em nosso trabalho, sugerindo que a infecção por este complexo de espécies não esteve associada aos nichos estudados. A dissociação entre as amostras clínicas e ambientais do CE *C. gattii* e a relação entre este fungo e áreas arborizadas ou semiarborizadas já foi

questionada anteriormente na literatura, porém permanece sem uma resposta consistente (CHATURVEDI e CHATURVEDI, 2011).

Este trabalho, não pretende estabelecer uma relação causal entre populações de árvores e pombos e os casos de meningite criptocócica. Se por um lado o fato de que nossos pacientes terem sido agrupados ao longo de 30 anos diminui a chance de que sua distribuição geográfica tenha sido ao acaso, por outro lado nos impede de comparar estatisticamente com a distribuição geográfica de pombos e árvores, já que ambos os levantamentos foram realizados no ano 2000. Assim, esta análise tem o potencial de contribuir para a construção do conhecimento epidemiológico acerca de potenciais fontes de *Cryptococcus* spp e sua relação com os pacientes sob maior risco de infecção, sobretudo aqueles HIV+, o maior grupo em nossa amostra.

7.2. Particularidades clínicas dos grupos.

Em consonância com os dados disponíveis em estudos anteriores sobre meningite criptocócica (CHEN, S. C. et al., 2012; DARZE et al., 1999; HASIMOTO E SOUZA et al., 2013; LEE, S. J. et al., 2011; LUI et al., 2006), o sintoma mais comumente apresentado na admissão foi cefaleia. Vômitos e febre também estiveram comumente presentes na admissão porém com uma frequência menos expressiva. Embora a febre seja um sintoma comumente relatado entre pacientes com meningite criptocócica (HASIMOTO E SOUZA et al., 2013; LIAO et al., 2012), admite-se que uma proporção dos pacientes acometidos não apresentem esta queixa na admissão (MITCHELL, T. G. e PERFECT, 1995). A frequente presença de vômitos nestes pacientes provavelmente está associada a uma elevação da pressão intracraniana, porém este dado não pode ser confirmado uma vez que nem todos os pacientes que apresentavam esta queixa na admissão foram submetidos a raquimanometria na primeira punção lombar.

Lee et al (2011) comparou pacientes HIV+ e HIV negativos internados por meningite criptocócica porém não encontrou diferenças na frequência dos sinais e sintomas apresentados pelo paciente na admissão, duração dos sintomas antes do diagnóstico ou mortalidade hospitalar entre estes dois grupos (LEE, Y. C. et al., 2011). O grupo HIV+ do atual estudo apresentou mais comumente febre e menos comumente rigidez de nuca. Por outro lado o grupo IC apresentou mais comumente rebaixamento

do nível de consciência e déficit neurológico focal e menos comumente febre do que os demais grupos. Chan et al (2014) comparou pacientes HIV+ e HIV negativos e a única diferença clínica encontrada na apresentação foi uma maior frequência de rebaixamento do nível de consciência entre os pacientes HIV negativos (CHAN et al., 2014). A presença de déficit neurológico na admissão, entretanto, já foi relatada mais comumente em pacientes HIV+ do que naqueles negativos (LIAO et al., 2012).

A única diferença na apresentação clínica entre pacientes dos grupos CECG e CECN foi a maior frequência de déficit neurológico focal entre os pacientes do grupo CECG. Este dado provavelmente está associado à maior frequência deste sinal no grupo IC já que 78,5% dos pacientes do grupo CECG eram imunocompetentes HIV negativos.

Desta forma, no atual estudo, o estado imunológico do paciente foi um fator determinante para a apresentação clínica da meningite criptocócica, sendo superior à avaliação do que o complexo de espécies infectante. Em relação ao papel do sistema imunológico na patogênese da criptococose, foi sugerido que não só a contagem total de linfócitos CD4+ está associada a maior suscetibilidade à infecção criptocócica, mas também a atividade desta linhagem celular (BROUWER et al., 2007). Um estudo conduzido em Taiwan mostrou uma menor quantidade das citocinas pró-inflamatórias no LCR de um paciente aparentemente imunocompetente com meningite por CE *C. gattii* em relação aos pacientes HIV+ com meningite por CE *C. neoformans* (BROUWER et al., 2007). Este paciente apresentava déficit neurológico focal (paralisia de NC III) porém nenhuma alteração ao exame de imagem encefálico (BROUWER et al., 2007).

Por outro lado, um estudo que avaliou 17 pacientes HIV negativos com meningite criptocócica grave (incluindo pacientes afetados pelo CE *C. gattii* e CE *C. neoformans*) mostrou linfócitos T altamente ativos com produção de citocinas pró-inflamatórias potencialmente nocivas no LCR (PANACKAL et al., 2015). Além disso, os pacientes submetidos a biópsia e autópsia neste estudo apresentavam infiltração tecidual com predomínio de macrófagos e monócitos além de linfócitos T porém os macrófagos teciduais mostraram baixa atividade fagocítica (PANACKAL et al., 2015). Este estudo sugeriu que a redução dos monócitos no LCR poderia estar associada à infiltração tecidual destas células (PANACKAL et al., 2015). No presente estudo os pacientes do grupo IC apresentaram menor proporção de monócitos no LCR. Este mesmo estudo também encontrou uma menor produção de TNF- α e argumenta que esta

produção inapropriada pode explicar a ausência de febre em 16/17 pacientes estudados (PANACKAL et al., 2015). No atual estudo, a presença de febre também foi incomum entre os pacientes do grupo IC, grupo que menos apresentou este sintoma na admissão.

Além disso, o próprio vírus da imunodeficiência humana pode contribuir para patogênese da criptococose e para a maior frequência de infecção pelo CE *C. neoformans* no grupo HIV positivo (LEONGSON et al., 2013). Em um modelo murino, ratos transgênicos que apresentavam expressão de produtos gênicos do HIV-1 apresentaram menor sobrevida do que ratos não transgênicos após inoculação de qualquer carga fúngica de CE *C. neoformans* enquanto que entre aqueles inoculados com CE *C. gattii* a sobrevida só diminuiu quando a carga fúngica do inoculum era alta (LEONGSON et al., 2013). A expressão do transgene HIV-1 também aumentou a disseminação sistêmica para fígado e baço em ratos infectados pelo CE *C. neoformans* mas não para aqueles infectados pelo CE *C. gattii*. Este dado vem de encontro com resultados de outros estudos que mostraram maior frequência de envolvimento extraneural e fungemia em pacientes HIV positivos (LEE, Y. C. et al., 2011). Por fim, ratos transgênicos infectados por uma cepa de CE *C. neoformans* apresentaram uma grande quantidade de fungo no pulmão com uma mínima reação inflamatória local, diferentemente dos ratos não transgênicos, que apresentavam uma reação inflamatória intensa quando infectados pela mesma cepa (LEONGSON et al., 2013). Por outro lado, uma das cepas de CE *C. gattii* estudadas não induziu uma resposta inflamatória pulmonar intensa em nenhum dos grupos de ratos (LEONGSON et al., 2013). Estes dados vêm de encontro com os achados de imagem pulmonar do presente estudo, com uma tendência a maior frequência de imagem pulmonar normal entre os pacientes HIV+ e menor frequência de lesões do tipo massa, micronodular e nodular neste grupo. Anormalidades na imagem pulmonar são frequentemente relatadas entre pacientes afetados pelo CE *C. gattii* (CHEN, S. C. et al., 2012). Embora a presença de anormalidades da radiografia de tórax tenha sido comum tanto no grupo CECG quanto no CECN, a única diferença nos achados deste exame entre os dois grupos foi a maior frequência de lesões do tipo massa no primeiro.

A presença de anormalidades na imagem encefálica também é comumente relatada entre os pacientes afetados pelo CE *C. gattii* (CHEN, S. C. et al., 2012). Mitchell et al (1995) relatou maior frequência de lesão de massa e ou hidrocefalia além de lesões pulmonares do tipo massa em pacientes acometidos pelo CE *C. gattii*

(MITCHELL, D. H. et al., 1995). Além disso, relatou também maior frequência de múltiplas lesões captantes de contraste, papiledema, maior pressão de abertura líquórica, maiores títulos séricos de antígeno criptocócico e pior prognóstico entre os pacientes afetados pelo CE *C. gattii* (MITCHELL, D. H. et al., 1995).

Pacientes HIV positivos tiveram maior frequência de imagem cerebral normal, enquanto que os HIV negativos mais frequentemente apresentaram imagem compatível com isquemia (LEE, Y. C. et al., 2011). Outro estudo não encontrou diferença na frequência de imagem encefálica normal, com presença de lesão do tipo massa ou hidrocefalia entre pacientes HIV+ e HIV negativos (CHAN et al., 2014).

Em pacientes que receberam transplante de órgão sólido, a presença de lesões em CNS identificadas por métodos de imagem foi de 29% em um estudo multicêntrico (SINGH et al., 2008). As lesões mais frequentes foram realce meníngeo (8/55), lesões parenquimatosas (6/55) e hidrocefalia (2/55), quase todas presentes já no diagnóstico de meningite criptocócica (SINGH et al., 2008).

7.3. O LCR

7.3.1. LCR de admissão: análise de acordo com o estado imunológico

7.3.1.1 Características físicas e cit químicas

Até o presente momento, nenhum outro estudo classificou os pacientes em HIV+, imunocompetentes e HIV negativos imunodeprimidos por outra causa. Além disso, nenhum outro estudo avaliou as características do LCR de forma longitudinal. E entre os estudos que classificaram os pacientes HIV positivos ou imunocompetentes, muitos não especificam na metodologia se todos os pacientes do segundo grupo foram submetidos ao teste sorológico para HIV ou se foram classificados apenas de acordo com suas histórias mórbitas pregressas (CHAN et al., 2014; JONGWUTIWES et al., 2008; LEE, Y. C. et al., 2011; LIAO et al., 2012; LUI et al., 2006; REIS-FILHO et al., 1994; TSENG et al., 2013). Assim, a comparação dos resultados do atual trabalho com dados disponíveis na literatura médica deve ser cuidadosa, sobretudo em relação aos pacientes descritos em outros estudos como HIV negativos, já que comumente incluem tanto pacientes imunocompetentes quanto imunodeprimidos por outras causas.

Pacientes HIV negativos comumente apresentam características no LCR sugestivas de uma reação inflamatória mais intensa, com maior pleocitose (JONGWUTIWES et al., 2008; LEE, Y. C. et al., 2011; LIAO et al., 2012; LUI et al., 2006) e proteinorraquia (LEE, Y. C. et al., 2011; LIAO et al., 2012; LUI et al., 2006). No presente estudo as características citológicas e bioquímicas do LCR de admissão apresentaram diferenças entre os grupos de acordo com estado imunológico. Em consonância com a hipótese de que pacientes imunocompetentes apresentam maior reação inflamatória, os pacientes do grupo IC apresentaram maior pleocitose, proteinorraquia, menor glicorraquia, e maior pressão de abertura em relação aos outros grupos.

Por outro lado, pacientes do grupo ID, comumente descritos por outros estudos apenas como HIV negativos, apresentaram valores medianos menores de contagem celular, proteinorraquia e maior glicorraquia em relação ao grupo IC, no entanto estas diferenças não foram estatisticamente significativas. Os valores encontrados para estas características foram intermediários aos encontrados nos grupos IC e HIV+. Por outro lado, houve aferição de menor pressão de abertura e maior proporção de monócitos no grupo ID em relação ao grupo IC e estas diferenças foram estatisticamente significativas. A pressão de abertura mediana do grupo ID esteve quase dentro dos limites da normalidade e foi estatisticamente semelhante à do grupo HIV+. Além disso, a citologia diferencial dos pacientes deste grupo também apresentou diferenças em relação aos demais. Embora a diferença na percentagem de linfócitos não tenha sido significativa entre os três grupos, os pacientes do grupo ID apresentaram uma percentagem mediana menor do que os pacientes dos grupos HIV+, enquanto que os pacientes dos grupos HIV+ e IC apresentaram uma percentagem de linfócitos estatisticamente semelhante. A percentagem de neutrófilos e de monócitos diferiu entre os três grupos, sendo que os pacientes do grupo ID apresentaram a maior percentagem mediana tanto de neutrófilos quanto de monócitos. Estas diferenças reforçam a hipótese de que pacientes HIV negativos porém com outras causas de imunossupressão apresentam características líquóricas peculiares que os tornam distintos tanto dos pacientes HIV+ quanto dos pacientes imunocompetentes.

Por fim, os pacientes do grupo HIV+ apresentaram a menor pleocitose, menor proteinorraquia e maior glicorraquia na comparação entre os três grupos. A menor pleocitose (JONGWUTIWES et al., 2008; LEE, Y. C. et al., 2011; LIAO et al., 2012) e

proteínoorraquia (LEE, Y. C. et al., 2011; LIAO et al., 2012) e maior glicorraquia (LEE, Y. C. et al., 2011) entre pacientes HIV+ em relação a pacientes HIV negativos já foram descritas anteriormente. Por outro lado, os pacientes do grupo HIV+ apresentaram maior percentagem mediana de linfócitos e menor de neutrófilos além de valores intermediários de pressão de abertura e percentagem de monócitos.

Embora a diferença na pressão de abertura só tenha sido estatisticamente significativa na análise entre os grupos HIV vs IC e ID vs IC houve uma tendência a diferença entre os três grupos. Até o momento, nenhum estudo encontrou diferença estatisticamente significativa para a pressão de abertura, independentemente dos grupos analisados (CHAN et al., 2014; JONGWUTIWES et al., 2008; LEE, Y. C. et al., 2011; LIAO et al., 2012; SEATON et al., 1996; TSENG et al., 2013; ZHENG et al., 2016; ZHONG et al., 2014), sendo que o menor valor de p (0,101) foi encontrado no estudo com maior amostra ($N=124$) (TSENG et al., 2013). É possível que a ausência de diferença estatisticamente significativa no atual trabalho esteja associada à baixa proporção de aferição da pressão de abertura já na admissão entre os pacientes estudados.

7.3.1.2 Características micológicas

Embora tenha existido uma tendência a maior positividade do teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico no grupo HIV+, não houve diferença estatisticamente significativa na positividade ou no título deste teste entre os grupos de diferentes estados imunológicos. A ausência de diferença neste teste entre pacientes HIV positivos e negativos já foi descrita previamente (LEE, S. J. et al., 2011; LEE, Y. C. et al., 2011; LIAO et al., 2012). Todavia, outros estudos já relataram maior frequência de altas titulações de antígeno criptocócico no grupo HIV+ (JONGWUTIWES et al., 2008; TSENG et al., 2013).

Por outro lado, houve diferença na positividade do exame micológico direto, que foi maior para pacientes do grupo HIV+ e menor para aqueles no grupo ID. A maior positividade do micológico direto para pacientes HIV+ já foi descrita anteriormente (CHAN et al., 2014; JONGWUTIWES et al., 2008) e denota uma maior carga fúngica neste grupo. Em contrapartida, outros estudos também já relataram ausência de

diferença na positividade do micológico direto entre pacientes HIV positivos e negativos (LEE, Y. C. et al., 2011; LIAO et al., 2012; SEATON et al., 1996).

7.3.2. LCR de admissão: análise de acordo com o complexo de espécies

7.3.2.1 Características físicas e citoquímicas

Até o momento, poucos estudos avaliaram características do LCR em pacientes acometidos por infecção do sistema nervoso central pelos CE *C. neoformans* ou *C. gattii* (APÊNDICE 1). Na análise de acordo com o complexo de espécies infectante do atual estudo, houve uma tendência a maior pressão de abertura no grupo CECG, semelhante ao descrito em outro estudo (TSENG et al., 2013). Os pacientes do grupo CECG apresentaram maior celularidade no LCR de admissão do que os pacientes do grupo CECN. Um estudo descreveu a proporção de pleocitose entre pacientes imunocompetentes afetados pelo CE *C. neoformans* (100%) ou CE *C. gattii* (87%) porém não determinou a significância estatística deste resultado (MITCHELL, D. H. et al., 1995). Não houve diferença estatisticamente significativa na percentagem de linfócitos ou neutrófilos entre os dois grupos, porém os pacientes do grupo CECG tinham menor proporção de monócitos no LCR de admissão do que os pacientes do grupo CECN. Esta diferença foi maior do que aquela encontrada na análise entre os grupos por estado imunológico e na comparação destes grupos de forma pareada, só não foi maior do que na comparação entre os grupos HIV+ e IC. Os valores medianos da percentagem de monócitos dos grupos CECG e CECN foram semelhantes respectivamente àqueles encontrados nos grupos IC e HIV+ (populações predominantes nos respectivos grupos). Entretanto, tanto o grupo CECG quanto o grupo CECN apresentavam pacientes de ambos os grupos HIV+ e IC. Desta forma, é possível que a diferença verificada na percentagem de monócitos entre os grupos de acordo com o complexo de espécies infectante tenha sido influenciada não só pelo estado imunológico do paciente mas também pela espécie do agente etiológico.

A glicorraquia foi menor nos pacientes do grupo CECG, contudo, é possível que este resultado também tenha sido influenciado pela diferença na glicorraquia entre os pacientes de grupos de diferentes estados imunológicos

Em suma, embora algumas diferenças tenham sido encontradas no LCR de admissão entre os pacientes dos grupos CECG e CECN, estas diferenças possivelmente foram influenciadas pelo estado imunológico predominante em cada grupo.

7.3.2.2 Características micológicas

Nenhuma diferença foi encontrada na frequência de positividade no exame micológico direto ou em relação ao teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico. A ausência de diferença entre os grupos estudados, tanto para o micológico direto (MITCHELL, D. H. et al., 1995) quanto para o título do antígeno criptocócico (TSENG et al., 2013) já foi descrita previamente. Até o presente momento, nenhum outro estudo avaliou a positividade do teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico entre pacientes com neurocriptococose afetados pelo complexo de espécies *C. neoformans* ou *C. gattii*.

7.3.3. LCR do desfecho: análise de acordo com o estado imunológico

7.3.3.1 Características físicas e citoquímicas

Até o momento, nenhum outro estudo avaliou as características evolutivas do LCR de pacientes acometidos por infecção do sistema nervoso central pelo CE *C. neoformans* ou *C. gattii*, inviabilizando a análise comparativa dos resultados deste estudo.

No LCR do desfecho, a diferença na pressão de abertura entre os grupos de acordo com o estado imunológico aumentou sem, porém, atingir significância estatística. Os pacientes do grupo ID tiveram a menor pressão de abertura, com valor mediano dentro dos valores da normalidade, os pacientes do grupo HIV+ mantiveram o valor intermediário, desta vez muito próximo da normalidade. Os pacientes do grupo IC não só mantiveram o maior valor mediano quanto este valor foi maior do que aquele registrado na primeira amostra de LCR.

Não houve diferença na citologia total ou diferencial entre os três grupos. No entanto houve diferença na forma em que a citologia total evoluiu, demonstrada pela diferença na razão entre a citologia total do LCR de admissão e aquela do desfecho. Todos os grupos tiveram uma queda na citologia total, porém o grupo HIV+ foi o grupo com a menor variação entre as duas amostras de LCR e o único que não apresentou diferença estatisticamente significativa na comparação da citologia total das duas amostras.

O único grupo que apresentou diferença na proporção de monócitos encontrada no LCR de admissão e aquela do LCR de desfecho foi o IC, sendo que a proporção de monócitos aumentou na última amostra.

Houve diferença na proteinorraquia entre os três grupos, entretanto, o ranking dos valores medianos foi bem diferente da primeira amostra: os pacientes do grupo ID tiveram a menor proteinorraquia mediana e os pacientes do grupo HIV+, a maior. Desta forma, o grupo HIV+ foi o grupo com menor variação da proteinorraquia entre a primeira e a última amostra e mais uma vez o único que não apresentou diferença nesta característica entre a primeira e a última amostra de LCR.

Houve diferença na glicorraquia entre os três grupos e esta diferença esteve concentrada na comparação entre os grupos HIV+ vs ID e ID vs IC. Contudo, todos os três grupos apresentaram valores medianos compatíveis com a normalidade. O grupo ID foi o grupo com a maior variação de glicose entre o LCR de admissão e de desfecho e o grupo HIV+ foi o único a não apresentar diferença estatisticamente significativa entre estas duas amostras.

7.3.3.2 Características micológicas

Houve diferença entre os três grupos na positividade do teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico na amostra de LCR do desfecho, porém não no título deste teste naquela amostra. A positividade do exame micológico direto também diferiu entre os três grupos. Assim como no LCR de admissão, o grupo com menor positividade para o exame micológico direto foi o ID, porém desta vez o grupo com maior positividade foi o IC e não o HIV+. Na comparação entre a amostra da admissão e a do desfecho dentro do mesmo grupo, o único que apresentou diferença estatisticamente significativa na positividade do exame micológico direto e do teste de

aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico foi o grupo HIV+. O grupo HIV+ ainda apresentou uma tendência a menor titulação do teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico. Uma interpretação possível para esta observação é que embora os pacientes do grupo HIV+ tenham uma maior carga fúngica na apresentação clínica, evidenciada por uma maior positividade no exame micológico direto e no teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico, esta carga fúngica diminuiu mais rapidamente após o início do tratamento antifúngico.

7.3.4. LCR do desfecho: análise de acordo com o complexo de espécies

7.3.4.1 Características físicas e citoquímicas

No atual estudo, a única característica do LCR de desfecho que diferiu entre os grupos CECG e CECN foi a celularidade total, maior no grupo CECG. É interessante ressaltar que a celularidade não foi estatisticamente significativa na comparação da última amostra entre os grupos de acordo com o estado imunológico. Além disso, na primeira amostra de LCR, a diferença entre os dois grupos foi ainda maior, enquanto a celularidade mediana do grupo CECG caiu para menos de um terço da inicial, a do grupo CECN não diminuiu nem mesmo pela metade. Esta diferença pode estar associada à maior queda na celularidade mediana entre a primeira e a última amostra de LCR dos pacientes do grupo IC em relação ao grupo HIV+. Embora os pacientes do grupo ID tenham tido a maior diferença na celularidade entre as duas amostras, com mediana na última amostra correspondente a 11% da primeira, todos os pacientes do grupo ID representam apenas 9,8% do grupo CECN e esta queda se diluiu entre aquela apresentada pelos pacientes do grupo HIV+. Por outro lado, a celularidade mediana no LCR de desfecho do grupo CECG foi maior do que a do grupo IC na mesma amostra. Estes dados não podem ser comparados já que 11 pacientes pertencem a ambos os grupos. Não obstante, duas hipóteses podem ser consideradas: 1) a diferença de cerca 30% encontrada na celularidade pode ter sido decorrente da presença de pacientes acometidos pelo CECN no grupo IC, 2) o grupo CECG teve uma celularidade maior do que a do grupo IC e esta diferença embora foi mantida ao longo do período estudado. A última hipótese parece mais plausível, já que de fato o grupo CECG sempre teve uma

celularidade maior do que o grupo IC e já que na comparação entre o LCR da admissão e o do desfecho o grupo IC mostrou diferença na contagem citológica entre as duas amostras e o grupo CECG não. A única diferença entre as duas amostras encontrada para o grupo CECG foi em relação à glicose, maior na última amostra. Enquanto que o grupo CECN apresentou diferenças na pressão de abertura e glicose, sendo a primeira característica maior no LCR de admissão e a segunda, no LCR de desfecho.

7.3.4.2 Características micológicas

Não houve diferença estatisticamente significativa em relação à positividade do exame micológico direto ou em relação à positividade ou título do teste de aglutinação de partículas de látex para o antígeno criptocócico no LCR do desfecho dos grupos CECG ou CECN. O grupo CECN apresentou diferenças na positividade e título do teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico e na positividade do exame micológico direto. O grupo CECG, por outro lado, não apresentou diferença entre o LCR da admissão e o do desfecho em nenhuma destas características.

7.4. Mortalidade

Embora a mortalidade tenha sido menor no grupo HIV+ do que no IC ou ID e no grupo CECG do que no CECN, esta diferença não foi estatisticamente significativa. Na literatura médica, tanto a menor mortalidade entre pacientes HIV+ do que entre aqueles HIV negativos (LIAO et al., 2012) quanto a ausência de diferença na mortalidade de pacientes HIV+ e negativos (JONGWUTIWES et al., 2008; TSENG et al., 2013) já foram relatadas.

Ao longo do período estudado, a mortalidade variou tanto para o grupo HIV+ quanto para o grupo CECN. Observou-se que na primeira década após o primeiro caso de meningite criptocócica no HC-UFPR (1987-1996), a mortalidade dos pacientes HIV+ era de 52%, maior do que nos demais grupos (44-50%). Após 1996, a mortalidade no grupo HIV+ caiu para 34% enquanto que a mortalidade nos demais grupos aumentou (66% em ambos os grupos). A queda na mortalidade dos pacientes HIV+ provavelmente está associada sobretudo à presença do TARV já que todos os pacientes foram tratados no mesmo hospital e portanto dispunham dos mesmos recursos

terapêuticos. Após o ano 2000, a mortalidade do grupo HIV+ caiu ainda mais e esta queda foi acompanhada por uma queda na mortalidade dos demais grupos. É possível que nesta época, não só a maior disponibilidade do tratamento antirretroviral altamente ativo para os pacientes HIV+, mas também que o conhecimento sobre o manejo da meningite criptocócica tenha se expandido suficientemente para contribuir com a diminuição da mortalidade observada. Esta hipótese é reforçada pela menor mortalidade entre os pacientes em TARV no diagnóstico de meningite criptocócica em relação àqueles que não estavam em TARV no diagnóstico de meningite. A relação entre o uso de TARV e mortalidade dos pacientes HIV+ já foi relatada, com maior mortalidade para os pacientes que não estavam em uso de TARV (CABELLO UBEDA et al., 2016).

Embora a mortalidade no grupo HIV+ tenha diminuído ao longo dos anos estudados e seja menor entre os pacientes em tratamento antirretroviral em relação àqueles que não estavam em tratamento, a sobrevida mediana não mudou no período estudado.

Em um estudo conduzido no Brasil na era pré-TARV, a mortalidade foi de 42,7%, neste estudo, a alteração do nível de consciência e celularidade no LCR $<40\text{cels/mm}^3$, como apresentando pelo grupo HIV+ na admissão, foram associados a maior letalidade (DARZE et al., 1999). Jarvis et al (2010), por outro lado, não encontrou diferença de mortalidade ou nas características do LCR entre pacientes em TARV ou virgens de tratamento antirretroviral, porém a contagem de células CD4+ também não foi diferente entre estes dois grupos (JARVIS, J. N. et al., 2010). A diferença mais marcante entre estes dois grupos foi a maior frequência de alteração do estado mental entre os pacientes que não recebiam TARV (JARVIS, J. N. et al., 2010). Em um outro estudo, pacientes com menor contagem CD4+ estiveram associados a maior título de antígeno criptocócico no LCR e maior frequência de doença disseminada (CABELLO UBEDA et al., 2016). No atual estudo, tanto o rebaixamento de nível de consciência quanto a presença de rigidez de nuca e de hidrocefalia no exame de imagem encefálica foram mais frequentes entre os pacientes que foram a óbito, independentemente de seu grupo.

Pacientes imunocompetentes foram associados a desfecho mais favorável (LUI et al., 2006). Apesar das diferenças clínicas, radiológicas e laboratoriais encontradas entre os grupos ID e IC, não houve diferença na mortalidade entre estes dois grupos. Em uma análise multivariada, a presença de uma maior pontuação na escala de comorbidade

de Charlson, uma maior leucocitose plasmática inicial foram fatores associadas a morte em 90 dias (LEE, Y. C. et al., 2011). No atual estudo, os pacientes do grupo IC apresentaram poucas comorbidades em relação ao grupo ID. É interessante notar, entretanto, que apesar do fato de que todos os pacientes do grupo IC além de terem sorologia negativa para HIV não apresentarem nenhum fator de imunodeficiência conhecida, nem todos os pacientes tinham uma avaliação aprofundada de causas mais raras ou inatas de imunodeficiência. Como seria de se esperar, não houve diferença na mortalidade ou na sobrevida dos pacientes dos grupos ID ou IC entre a era pré e pós HAART.

Entre os grupos de acordo com o complexo de espécies infectante, o grupo CECN também apresentou a queda na mortalidade observada no grupo HIV+, provavelmente em decorrência da grande proporção de pacientes HIV+ neste grupo. A mortalidade do grupo CECG, por outro lado, foi menor do que todos os grupos e permaneceu estável ao longo do período estudado. O único paciente que faleceu antes de 1996 no grupo CECG era HIV+ e não só estava em uso de TARV como também em uso de fluconazol profilático (contagem de células CD4+ na admissão = 120 células/mm³), este paciente sobreviveu 97 dias após a internação.

Em um estudo apenas com pacientes sem causas de imunodepressão conhecidas afetados pelo CE *C. gattii* 34% dos pacientes foram a óbito, com tempo mediano de 8 dias após a internação (SEATON et al., 1996). Nenhuma associação entre morte e características do LCR ou antígeno criptocócico no LCR foi encontrada, mas os pacientes que foram a óbito tiveram uma tendência a ter maiores títulos criptocócicos plasmáticos (SEATON et al., 1996). Esses pacientes eram predominantemente homens, mais velhos e na admissão frequentemente apresentaram alteração do nível de consciência, convulsão e hipertensão arterial sistêmica (SEATON et al., 1996).

Uma menor razão entre glicemia e glicorraquia na admissão já foi relatada como preditiva de pior prognóstico (ZHENG et al., 2016), enquanto que o predomínio linfocítico no LCR já foi apontado como fator de proteção (LEE, Y. C. et al., 2011). No atual estudo, a diferença encontrada no LCR de admissão entre os pacientes que foram a óbito e os que sobreviveram foi um menor índice de cor entre os pacientes que foram a óbito. Não houve diferença estatisticamente significativa neste parâmetro na comparação do LCR de admissão entre pacientes de diferentes estados imunológicos ou acometidos por diferentes complexos de espécies.

Por outro lado, a análise do LCR de desfecho entre pacientes que sobreviveram e entre aqueles que foram a óbito apontou diferenças na pressão de abertura, no índice de cor e na percentagem de neutrófilos, todos estes parâmetros foram maior nos pacientes que foram a óbito.

Enquanto nenhuma diferença foi encontrada entre a primeira e a última amostra de LCR dos pacientes que faleceram, entre os pacientes que sobreviveram houve diferença no índice de cor, na celularidade, no lactato e na positividade do exame micológico direto e do teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico. Apenas o índice de cor foi maior na última amostra do que na primeira, os demais parâmetros foram menores na última amostra. Isso sugere que ao contrário do observado para os pacientes que foram a óbito, o LCR dos pacientes que sobreviveram apresentou mudanças estatisticamente significativas durante o curso da doença.

A única característica do hemograma inicial que diferiu entre pacientes que sobreviveram e que foram a óbito foi a contagem leucocitária, menor no primeiro grupo. Em uma análise univariada, a leucocitose plasmática maior do que 11000 e o envolvimento extraneural foram fatores associados a mortalidade em 90 dias (LEE, Y. C. et al., 2011). No atual estudo, contudo, o envolvimento extraneural não foi associado a mortalidade.

7.5. Outras particularidades dos grupos.

7.5.1. Hemograma

Os resultados do hemograma inicial podem ser relevantes para o curso clínico, já que existem relatos da associação de anemia (JARVIS, J. N. et al., 2014) e leucocitose (JARVIS, J. N. et al., 2014; LEE, Y. C. et al., 2011) no sangue periférico com mortalidade (JARVIS, J. N. et al., 2014; LEE, Y. C. et al., 2011), maior carga fúngica, pacientes mais idosos ou alteração do estado mental na admissão (JARVIS, J. N. et al., 2014). No atual estudo, houve diferença entre os grupos tanto de acordo com o estado imunológico quanto de acordo com o complexo de espécies infectante no hemograma de admissão, com diferenças significativas para todas as características estudadas exceto na bastonetose. Na análise de acordo com o estado imunológico, este dado reflete as próprias diferenças entre os grupos, com valores dentro da normalidade

para os pacientes do grupo IC (incluindo a mediana da contagem leucocitária e percentagem de bastões). Como esperado para pacientes do grupo HIV+ com doença definidora de doença, a contagem de linfócitos foi baixa, assim como a contagem de leucócitos, que ficou próxima do limite inferior. Os pacientes do grupo ID também apresentaram uma contagem linfocítica mediana menor do que os pacientes do grupo IC, corroborando o fato de que estes pacientes apresentam diferenças imunológicas, porém esta diferença não foi estatisticamente diferente. Tanto pacientes do grupo HIV+ quanto pacientes do grupo ID apresentavam valores baixos de hemoglobina e hematócrito, contudo, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. A presença de valores medianos compatíveis com anemia, ainda que leve, sugere uma condição clínica mais desfavorável já na admissão, em relação aos pacientes do grupo IC. As características do hemograma inicial também foram diferentes para os pacientes de acordo com o complexo de espécies infectante. Embora seja possível que o agente etiológico interfira diretamente nas características imunológicas e hematológicas, esta hipótese não pode ser testada no atual estudo. Além disso, embora ainda estatisticamente significativas, estas diferenças foram menores do que aquelas encontradas na análise de acordo com o estado imunológico do hospedeiro e portanto podem ser um reflexo da composição dos grupos CECG e CECN em relação a grande proporção de indivíduos do grupo IC no primeiro e de indivíduos dos grupos HIV+ e ID no segundo grupo.

Assim como no primeiro hemograma, quase todas as características do último hemograma apresentaram diferenças entre os pacientes de diferentes estados imunológicos, exceto na percentagem de bastões e contagem plaquetária. Enquanto as diferenças na contagem leucocitária e linfocitária se mantiveram, as diferenças na hemoglobina e hematócrito diminuíram. No último hemograma, a mediana de todos os grupos foi compatível com anemia. Vários fatores podem ter contribuído para a queda da hemoglobina e hematócrito entre estes pacientes, incluindo o uso de anfotericina B (TUGUME et al., 2016) e a própria internação hospitalar prolongada.

As únicas características do último hemograma que apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos CECG e CECN foram a contagem leucocitária e linfocitária, maior no primeiro grupo.

7.5.2. Tratamento

Houve diferença no tratamento entre os grupos. Embora os pacientes HIV+ que foram a óbito tenham tido uma menor mediana de sobrevida do que os demais grupos, esta diferença não foi estatisticamente significativa e não pode explicar totalmente a diferença no tratamento encontrada. É interessante notar que embora os pacientes no grupo HIV+ tenham recebido uma menor dose e tempo de tratamento de anfotericina do que os demais grupos, ele apresentou uma maior queda na positividade tanto do exame micológico direto quanto no teste de aglutinação de partículas de látex para antígeno criptocócico do que aquela apresentada pelo grupo IC. Assim, é possível que o grupo HIV+ tenha recebido menor dose desta medicação porque teve um clearance fúngico mais rápido do que o outro grupo. O mesmo pode ser dito na comparação entre o tratamento recebido pelos pacientes dos grupos CECG e CECN.

7.6. 30 anos de meningite criptocócica no HC-UFPR: considerações finais.

O longo período de estudo possibilitou tanto um banco de dados de LCR robusto como uma população de pacientes HIV+ bastante diversificada. Antes da epidemia de HIV, a ocorrência de meningite criptocócica era mais rara e muitos dos primeiros pacientes HIV+ tiveram atraso no diagnóstico de meningite, possivelmente devido ao pouco conhecimento sobre as infecções oportunistas nesta população. Após o ano de 1996, com a disponibilização de tratamento antirretroviral no SUS e sobretudo após o ano 2000, quando a HAART passou a ser recomendada pelo ministério da saúde e mais acessível aos pacientes, observamos não só uma diminuição da frequência de casos internados como uma menor letalidade entre os pacientes HIV+.

Muitos dos pacientes excluídos eram pacientes HIV negativos com outras formas de imunossupressão que tinham culturas positivas em outros sítios que não o LCR mas que não foram submetidos a punção lombar e portanto a infecção em SNC não foi confirmada mas também não pode ser excluída. Kiertiburanakul et al (2006) estudou a criptococose em 37 pacientes HIV negativos (65% deles tinha alguma comorbidade), 62% apresentou infecção criptocócica disseminada (KIERTIBURANAKUL et al., 2006). Entre os 25 pacientes que foram submetidos a punção lombar, neste estudo, 13 apresentaram cultura positiva para *Cryptococcus* spp. sendo que seis destes pacientes não tinham clínica sugestiva de meningite

(KIERTIBURANAKUL et al., 2006). Desta forma, é possível que uma parcela considerável dos pacientes excluídos por não apresentarem cultura positiva para *Cryptococcus* spp. no LCR na verdade tivessem meningite não diagnosticada. Dos 16 prontuários revisados de pacientes com cultura positiva para *Cryptococcus* spp. em outro sítio que não o LCR, 14 faleceram.

Outros pacientes com outras causas de imunodepressão e mesmo dois pacientes sem nenhuma comorbidade foram excluídos porque não tinham sorologia conhecida para HIV (ANEXO E). Quatro apresentaram meningite na década de 80, sete na primeira metade da década de 90 e apenas 3 após 1995. A maior frequência de sorologia desconhecida para HIV nos anos iniciais da epidemia de HIV no Paraná reflete a menor disponibilidade do teste e menor suspeição da associação entre meningite criptocócica e a infecção pelo vírus HIV naquela época.

Entre as fragilidades deste estudo encontra-se o caráter retrospectivo do mesmo. Assim, ao contrário do que ocorreria em um estudo prospectivo onde um ou poucos indivíduos seriam responsáveis por coletar dados específicos em um curto ou médio prazo, neste estudo os dados coletados em prontuários foram descritos por um conjunto grande de profissionais ao longo de trinta anos, o que torna a descrição destes dados mais heterogênea. Devido o longo período do estudo, as próprias condições de atendimento disponíveis podem ter sofrido variações, incluindo a infra-estrutura hospitalar e mesmo a disponibilidade de exames laboratoriais como a carga viral para pacientes HIV+. Além disso, em relação ao mapa plotado por georeferenciamento, o fato de as populações de pombos e árvores terem sido levantadas no ano 2000 e a população de pacientes ao longo de trinta anos, foi impeditiva para análise estatística destes dados.

Por outro lado, entre os pontos altos do trabalho, também podemos incluir o longo período do estudo, já que foi justamente este fator que possibilitou uma amostra grande de pacientes com meningite criptocócica. É interessante ressaltar também, que tanto a Seção de Micologia quanto o Laboratório de LCR da Seção de Análises Clínicas do HC-UFPR são setores de excelência deste hospital e foram os respectivos responsáveis pela análise micológica e de LCR ao longo de todos os anos estudados, garantindo a confiabilidade dos dados produzidos por estas seções incluídos neste trabalho. Além disso, a exclusão de todo paciente com sorologia desconhecida para HIV, incomum entre trabalhos disponíveis na literatura, torna possível a classificação

dos pacientes em HIV positivos e negativos de forma fidedigna. Ademais, a divisão dos pacientes HIV negativos nos grupos ID e IC é outro diferencial deste trabalho, que mostrou várias diferenças entre estes grupos que até então sempre foram considerados em conjunto. Por fim, todos os pacientes foram avaliados de duas formas: de acordo com seu estado imunológico e de acordo com o complexo de espécies infectante. A avaliação do mesmo paciente de acordo com estes dois prismas nos permite uma melhor compreensão da influência de cada um destes critérios no curso clínico da doença estudada.

8. CONCLUSÕES

1. Houve predomínio de pacientes no grupo HIV+ e não houve diferença na proporção de pacientes entre os grupos IC e ID. Foi observada maior frequência de pacientes do grupo CECN em relação ao grupo CECG. Também observou-se predomínio de pacientes imunocompetentes no grupo CECG, nenhum paciente do grupo ID foi acometido pelo CE *C. gattii*.

2. Entre os grupos por estado imunológico, houve predomínio do sexo masculino; o grupo com maior mediana de idade foi o IC. Entre os grupos por complexo de espécies, houve predomínio do sexo masculino; não houve diferença de idade entre os grupos CECG e CECN.

3. Entre os grupos por estado imunológico, houve diferença em quase todas as características do LCR de admissão (celularidade, proporção de neutrófilos, de monócitos, proteína, glicose, e positividade do micológico direto). Entre os grupos por complexo de espécies, as diferenças no LCR de admissão encontradas foram quanto à celularidade, percentagem de monócitos e glicorraquia. As diferenças observadas entre os grupos CECG e CECN podem ter sido influenciadas pela grande proporção de pacientes imunocompetentes no grupo CECG e de pacientes HIV+ no grupo CECN. No LCR de desfecho, entre pacientes de diferentes estados imunológicos, houve diferença em relação a proteínas e glicose. No LCR de desfecho houve diferença apenas na celularidade entre os grupos CECG e CECN.

4. Não houve diferença estatisticamente significativa na mortalidade entre os grupos de acordo com estado imunológico ou de acordo com o complexo de espécies. Os pacientes que foram a óbito mais frequentemente apresentaram rigidez de nuca e rebaixamento do nível de consciência à admissão e hidrocefalia ao exame de neuroimagem. No LCR de admissão, os pacientes que foram a óbito apresentaram um maior índice de cor. No LCR de desfecho, os pacientes que foram a óbito apresentaram maior pressão de abertura, maior índice de cor e maior proporção de neutrófilos. Enquanto os pacientes que foram a óbito não apresentaram diferenças entre o LCR da admissão e o do desfecho, aqueles que sobreviveram apresentaram uma variação no sentido da normalização, porém esta variação só foi estatisticamente significativa no que se refere ao índice de cor, celularidade e lactato.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. M., RIBEIRO, C. E., et al. Incidence of neurological manifestations as AIDS defining clinical conditions in Brazil. **BMC Proceedings**, v.2, n.(Supl 1). 2008.

BARNETT, J. A. A history of research on yeasts 14: medical yeasts part 2, *Cryptococcus neoformans*. **Yeast**, v.27, n.11, p.875-904. 2010.

BARTLETT, K. H., CHENG, P. Y., et al. A decade of experience: *Cryptococcus gattii* in British Columbia. **Mycopathologia**, v.173, n.5-6, p.311-9. 2012.

BERKEFELD, J., ENZENSBERGER, W., et al. *Cryptococcus* meningoencephalitis in AIDS: parenchymal and meningeal forms. **Neuroradiology**, v.41, n.2, p.129-33. 1999.

BICANIC, T., BROUWER, A. E., et al. Relationship of cerebrospinal fluid pressure, fungal burden and outcome in patients with cryptococcal meningitis undergoing serial lumbar punctures. **Aids**, v.23, n.6, p.701-6. 2009.

BOEKHOUT, T., THEELEN, B., et al. Hybrid genotypes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. **Microbiology**, v.147, n.Pt 4, p.891-907. 2001.

BOSE, I., REESE, A. J., et al. A yeast under cover: the capsule of *Cryptococcus neoformans*. **Eukaryot Cell**, v.2, n.4, p.655-63. 2003.

BOULWARE, D. R., BONHAM, S. C., et al. Paucity of initial cerebrospinal fluid inflammation in cryptococcal meningitis is associated with subsequent immune reconstitution inflammatory syndrome. **J Infect Dis**, v.202, n.6, p.962-70. 2010.

BRASIL. Lei Nº 9.313, de 13 de novembro de 1996. Dispõe sobre a distribuição gratuita de medicamentos aos portadores do HIV e doentes de AIDS. **Diário Oficial da república Federativa do Brasil**. Brasília, DF. 13 de novembro de 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST Aids e Hepatites Virais. **Recomendações para a terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV**. Brasília, 2004. 61 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. **Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV**. Brasília, 2013. 56 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico - AIDS e DST**. Brasília, 2014. 84 p.

BRASIL. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Instituto Nacional de Meteorologia**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/>>. Acesso em: 03mar2016.

BRITO-SANTOS, F., BARBOSA, G. G., et al. Environmental isolation of *Cryptococcus gattii* VGII from indoor dust from typical wooden houses in the deep Amazonas of the Rio Negro basin. **PLoS One**, v.10, n.2, p.e0115866. 2015.

BRITO, A. M., CASTILHO, E. A., et al. AIDS e infecção pelo HIV no Brasil: uma epidemia multifacetada. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.2, p.207-217. 2000.

BROUWER, A. E., SIDDIQUI, A. A., et al. Immune dysfunction in HIV-seronegative, *Cryptococcus gattii* meningitis. **J Infect**, v.54, n.3, p.e165-8. 2007.

BYRNES, E. J., 3RD, BILDFELL, R. J., et al. Molecular evidence that the range of the Vancouver Island outbreak of *Cryptococcus gattii* infection has expanded into the Pacific Northwest in the United States. **J Infect Dis**, v.199, n.7, p.1081-6. 2009.

CABELLO UBEDA, A., FORTES ALEN, J., et al. [Cryptococcal meningoencephalitis. Epidemiology and mortality risk factors in pre- and post-HAART era]. **Med Clin (Barc)**, v.146, n.9, p.397-401. 2016.

CAMPBELL, G. D. Primary pulmonary cryptococcosis. **Am Rev Respir Dis**, v.94, n.2, p.236-43. 1966.

CASADEVALL, A., ROSAS, A. L., et al. Melanin and virulence in *Cryptococcus neoformans*. **Curr Opin Microbiol**, v.3, n.4, p.354-8. 2000.

CATTANA, M. E., SOSA MDE, L., et al. Native trees of the Northeast Argentine: natural hosts of the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* species complex. **Rev Iberoam Micol**, v.31, n.3, p.188-92.

CATTANA, M. E., SOSA MDE, L., et al. Native trees of the Northeast Argentine: natural hosts of the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* species complex. **Rev Iberoam Micol**, v.31, n.3, p.188-92. 2014.

CDC. EMERGENCE of *Cryptococcus gattii* - Pacific Northwest, 2004–2010. **American Journal of Transplantation**, v.59, n.28, p.865-8. 2011.

CHAN, M., LYE, D., et al. Clinical and microbiological characteristics of cryptococcosis in Singapore: predominance of *Cryptococcus neoformans* compared with *Cryptococcus gattii*. **Int J Infect Dis**, v.26, p.110-5. 2014.

CHANG, Y. C., STINS, M. F., et al. Cryptococcal yeast cells invade the central nervous system via transcellular penetration of the blood-brain barrier. **Infect Immun**, v.72, n.9, p.4985-95. 2004.

CHARLIER, C., CHRETIEN, F., et al. Capsule structure changes associated with *Cryptococcus neoformans* crossing of the blood-brain barrier. **Am J Pathol**, v.166, n.2, p.421-32. 2005.

CHARLIER, C., DROMER, F., et al. Cryptococcal neuroradiological lesions correlate with severity during cryptococcal meningoencephalitis in HIV-positive patients in the HAART era. **PLoS One**, v.3, n.4, p.e1950. 2008.

CHATURVEDI, V. e CHATURVEDI, S. *Cryptococcus gattii*: a resurgent fungal pathogen. **Trends Microbiol**, v.19, n.11, p.564-71. 2011.

CHEN, S., SORRELL, T., et al. Epidemiology and host- and variety-dependent characteristics of infection due to *Cryptococcus neoformans* in Australia and New Zealand. Australasian Cryptococcal Study Group. **Clin Infect Dis**, v.31, n.2, p.499-508. 2000.

CHEN, S. C., SLAVIN, M. A., et al. Clinical manifestations of *Cryptococcus gattii* infection: determinants of neurological sequelae and death. **Clin Infect Dis**, v.55, n.6, p.789-98. 2012.

CHRETIEN, F., LORTHOLARY, O., et al. Pathogenesis of cerebral *Cryptococcus neoformans* infection after fungemia. **J Infect Dis**, v.186, n.4, p.522-30. 2002.

COGLIATI, M. Global Molecular Epidemiology of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*: An Atlas of the Molecular Types. **Scientifica (Cairo)**, v.2013, p.675213. 2013.

COMAR, S. R., MACHADO, N. A., et al. Cytological analysis of cerebrospinal fluid. **Estud. Biol**, v.31, p.93-102. 2009.

CONSENSO em criptococose: 2008. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.41, p.524-544. 2008.

COOPER, B. H. Clinical laboratory evaluation of a screening medium (CN screen) for *Cryptococcus neoformans*. **J Clin Microbiol**, v.11, n.6, p.672-4. 1980.

CORTI, M., VILLAFANE, M. F., et al. Magnetic resonance imaging findings in AIDS patients with central nervous system cryptococcosis. **Rev Iberoam Micol**, v.25, n.4, p.211-4. 2008.

COSTA, M. L., SOUZA, J. P., et al. Cryptococcal meningitis in HIV negative pregnant women: case report and review of literature. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v.51, n.5, p.289-94. 2009.

CURITIBA. **Portal da Prefeitura Municipal de Curitiba**. Disponível em: <http://www.curitiba.pr.gov.br/conteudo/perfil-da-cidade-de-curitiba/174>. Acesso em: 20 jul 2016.

CURRIE, B. P. e CASADEVALL, A. Estimation of the prevalence of cryptococcal infection among patients infected with the human immunodeficiency virus in New York City. **Clin Infect Dis**, v.19, n.6, p.1029-33. 1994.

DARRAS-JOLY, C., CHEVRET, S., et al. *Cryptococcus neoformans* infection in France: epidemiologic features of and early prognostic parameters for 76 patients who were infected with human immunodeficiency virus. **Clin Infect Dis**, v.23, n.2, p.369-76. 1996.

DARZE, C., LUCENA, R., et al. [Prognosis factors in cryptococcal meningoencephalitis]. **Arq Neuropsiquiatr**, v.57, n.3A, p.649-52. 1999.

DENNING, D. W., ARMSTRONG, R. W., et al. Elevated cerebrospinal fluid pressures in patients with cryptococcal meningitis and acquired immunodeficiency syndrome. **Am J Med**, v.91, n.3, p.267-72. 1991.

DIAMOND, R. D. e BENNETT, J. E. Prognostic factors in cryptococcal meningitis. A study in 111 cases. **Ann Intern Med**, v.80, n.2, p.176-81. 1974.

DO LAGO, R. F. e COSTA NDO, R. [Policy dilemmas in providing antiretroviral treatment in Brazil]. **Cien Saude Colet**, v.15 Suppl 3, p.3529-40. 2010.

DOERING, T. L. How sweet it is! Cell wall biogenesis and polysaccharide capsule formation in *Cryptococcus neoformans*. **Annu Rev Microbiol**, v.63, p.223-47. 2009.

DORTA-CONTRERAS, A. J. [Neurocryptococcosis as an emerging disease in immunocompetent patients]. **Rev Neurol**, v.47, n.9, p.504. 2008.

DOURADO, I., VERAS, M. A., et al. [AIDS epidemic trends after the introduction of antiretroviral therapy in Brazil]. **Rev Saude Publica**, v.40 Suppl, p.9-17. 2006.

DROMER, F., MATHOULIN-PELISSIER, S., et al. Epidemiology of HIV-associated cryptococcosis in France (1985-2001): comparison of the pre- and post-HAART eras. **Aids**, v.18, n.3, p.555-62. 2004.

EGHWRUDJAKPOR, P. O. e ALLISON, A. B. Neurocryptococcosis in a 10-year-old immunocompetent girl. **Acta Neurochir (Wien)**, v.151, n.6, p.711-2; discussion 712. 2009.

ELLIS, D. H. e PFEIFFER, T. J. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. **J Clin Microbiol**, v.28, n.7, p.1642-4. 1990.

EMMONS, C. W. Isolation of *Cryptococcus neoformans* from soil. **J Bacteriol**, v.62, n.6, p.685-90. 1951.

EMMONS, C. W. Saprophytic sources of *Cryptococcus neoformans* associated with the pigeon (*Columba livia*). **Am J Hyg**, v.62, n.3, p.227-32. 1955.

ERKE, K. H. Light microscopy of basidia, basidiospores, and nuclei in spores and hyphae of *Filobasidiella neoformans* (*Cryptococcus neoformans*). **J Bacteriol**, v.128, n.1, p.445-55. 1976.

ESPINEL-INGROFF, A. e KIDD, S. E. Current trends in the prevalence of *Cryptococcus gattii* in the United States and Canada. **Infect Drug Resist**, v.8, p.89-97. 2015.

FELDMESSER, M., KRESS, Y., et al. *Cryptococcus neoformans* is a facultative intracellular pathogen in murine pulmonary infection. **Infect Immun**, v.68, n.7, p.4225-37. 2000.

- FILIU, W. F., WANKE, B., et al. [Avian habitats as sources of *Cryptococcus neoformans* in the city of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.35, n.6, p.591-5. 2002.
- FORTES, S. T., LAZERA, M. S., et al. First isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from a native jungle tree in the Brazilian Amazon rainforest. **Mycoses**, v.44, n.5, p.137-40. 2001.
- FRANZOT, S. P., SALKIN, I. F., et al. *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*: separate varietal status for *Cryptococcus neoformans* serotype A isolates. **J Clin Microbiol**, v.37, n.3, p.838-40. 1999.
- GALANIS, E., MACDOUGALL, L., et al. Epidemiology of *Cryptococcus gattii*, British Columbia, Canada, 1999-2007. **Emerg Infect Dis**, v.16, n.2, p.251-7. 2010.
- GOLDMAN, D. L., KHINE, H., et al. Serologic evidence for *Cryptococcus neoformans* infection in early childhood. **Pediatrics**, v.107, n.5, p.E66. 2001.
- GONZALEZ, C. E., SHETTY, D., et al. Cryptococcosis in human immunodeficiency virus-infected children. **Pediatr Infect Dis J**, v.15, n.9, p.796-800. 1996.
- GRANADOS, D. P. e CASTANEDA, E. Isolation and characterization of *Cryptococcus neoformans* varieties recovered from natural sources in Bogota, Colombia, and study of ecological conditions in the area. **Microb Ecol**, v.49, n.2, p.282-90. 2005.
- GRANGER, D. L., PERFECT, J. R., et al. Virulence of *Cryptococcus neoformans*. Regulation of capsule synthesis by carbon dioxide. **J Clin Invest**, v.76, n.2, p.508-16. 1985.
- GRECO, D. B. e SIMAO, M. Brazilian policy of universal access to AIDS treatment: sustainability challenges and perspectives. **Aids**, v.21 Suppl 4, p.S37-45. 2007.
- HAGEN, F., KHAYHAN, K., et al. Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complex. **Fungal Genet Biol**, v.78, p.16-48. 2015.
- HARRIS, J. R., LOCKHART, S. R., et al. *Cryptococcus gattii* in the United States: clinical aspects of infection with an emerging pathogen. **Clin Infect Dis**, v.53, n.12, p.1188-95. 2011.

HARRIS, J. R., LOCKHART, S. R., et al. *Cryptococcus gattii* infections in multiple states outside the US Pacific Northwest. **Emerg Infect Dis**, v.19, n.10, p.1620-6. 2013.

HARRISON, T. S. The burden of HIV-associated cryptococcal disease. **Aids**, v.23, n.4, p.531-2. 2009.

HASIMOTO E SOUZA, L. K., COSTA, C. R., et al. Clinical and microbiological features of cryptococcal meningitis. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.46, n.3, p.343-7. 2013.

HUANG, H. R., FAN, L. C., et al. Evaluation of a new cryptococcal antigen lateral flow immunoassay in serum, cerebrospinal fluid and urine for the diagnosis of cryptococcosis: a meta-analysis and systematic review. **PLoS One**, v.10, n.5, p.e0127117. 2015.

IDNURM, A., BAHN, Y. S., et al. Deciphering the model pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. **Nat Rev Microbiol**, v.3, n.10, p.753-64. 2005.

INTERNATIONAL MYCOLOGICAL ASSOCIATION. **MycoBank**. Disponível em: <<http://www.mycobank.org/>>. Acesso em: 22may2016.

JARVIS, J. e MEINTJES, G. Cryptococcal meningitis--a neglected killer. **S Afr Med J**, v.101, n.4, p.244-5. 2011.

JARVIS, J. N., BICANIC, T., et al. Determinants of mortality in a combined cohort of 501 patients with HIV-associated Cryptococcal meningitis: implications for improving outcomes. **Clin Infect Dis**, v.58, n.5, p.736-45. 2014.

JARVIS, J. N., MEINTJES, G., et al. Outcomes of cryptococcal meningitis in antiretroviral naive and experienced patients in South Africa. **J Infect**, v.60, n.6, p.496-8. 2010.

JONGWUTIWES, U., SUNGKANUPARPH, S., et al. Comparison of clinical features and survival between cryptococcosis in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative patients. **Jpn J Infect Dis**, v.61, n.2, p.111-5. 2008.

KATSU, M., KIDD, S., et al. The internal transcribed spacers and 5.8S rRNA gene show extensive diversity among isolates of the *Cryptococcus neoformans* species complex. **FEMS Yeast Res**, v.4, n.4-5, p.377-88. 2004.

KHAN, Z. U., PAL, M., et al. Carriage of *Cryptococcus neoformans* in the crops of pigeons. **J Med Microbiol**, v.11, n.2, p.215-8. 1978.

KIDD, S. E., CHOW, Y., et al. Characterization of environmental sources of the human and animal pathogen *Cryptococcus gattii* in British Columbia, Canada, and the Pacific Northwest of the United States. **Appl Environ Microbiol**, v.73, n.5, p.1433-43. 2007.

KIDD, S. E., HAGEN, F., et al. A rare genotype of *Cryptococcus gattii* caused the cryptococcosis outbreak on Vancouver Island (British Columbia, Canada). **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.101, n.49, p.17258-63. 2004.

KIERTIBURANAKUL, S., WIROJTANANUGOON, S., et al. Cryptococcosis in human immunodeficiency virus-negative patients. **Int J Infect Dis**, v.10, n.1, p.72-8. 2006.

KLEIN, K. R., HALL, L., et al. Identification of *Cryptococcus gattii* by use of L-canavanine glycine bromothymol blue medium and DNA sequencing. **J Clin Microbiol**, v.47, n.11, p.3669-72. 2009.

KOBAYASHI, C. C., SOUZA, L. K., et al. Characterization of *Cryptococcus neoformans* isolated from urban environmental sources in Goiania, Goias State, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v.47, n.4, p.203-7. 2005.

KOHL, K. H., HOF, H., et al. *Cryptococcus neoformans* var *gattii* in Europe. **Lancet**, v.1, n.8444, p.1515. 1985.

KOZUBOWSKI, L. e HEITMAN, J. Profiling a killer, the development of *Cryptococcus neoformans*. **FEMS Microbiol Rev**, v.36, n.1, p.78-94. 2012.

KUSHAWAHA, A., MOBARAKAI, N., et al. *Cryptococcus neoformans* meningitis in a diabetic patient--the perils of an overzealous immune response: a case report. **Cases J**, v.2, p.209. 2009.

KWON-CHUNG, K. J. A new genus, filobasidiella, the perfect state of *Cryptococcus neoformans*. **Mycologia**, v.67, n.6, p.1197-200. 1975.

KWON-CHUNG, K. J. Morphogenesis of *Filobasidiella neoformans*, the sexual state of *Cryptococcus neoformans*. **Mycologia**, v.68, n.4, p.821-33. 1976.

KWON-CHUNG KJ, BOEKHOUT T, et al. (1557) Proposal to conserve the name *Cryptococcus gattii* against *C. hondrianus* and *C. bacillisporus* (Basidiomycota, Hymenomycetes, Tremellomycetidae). **Taxon**, v.51, p.804-806. 2002.

KWON-CHUNG KJ, B. J., THEODORE, TS. *Cryptococcus bacillisporus* sp. nov.: Serotype B-C of *Cryptococcus neoformans*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.28, n.4, p.616-620. 1978.

KWON-CHUNG, K. J., FRASER, J. A., et al. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*, the etiologic agents of cryptococcosis. **Cold Spring Harbor Perspect Med**, v.4, n.7, p.a019760. 2014.

KWON-CHUNG, K. J., POLACHEK, I., et al. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B and C). **J Clin Microbiol**, v.15, n.3, p.535-7. 1982.

KWON-CHUNG, K. J. e VARMA, A. Do major species concepts support one, two or more species within *Cryptococcus neoformans*? **FEMS Yeast Res**, v.6, n.4, p.574-87. 2006.

LATOUCHE, G. N., HUYNH, M., et al. PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the phospholipase B (PLB1) gene for subtyping of *Cryptococcus neoformans* isolates. **Appl Environ Microbiol**, v.69, n.4, p.2080-6. 2003.

LEAL, A. L., FAGANELLO, J., et al. Epidemiological profile of cryptococcal meningitis patients in Rio Grande do Sul, Brazil. **Mycopathologia**, v.166, n.2, p.71-5. 2008.

LEE, S. J., CHOI, H. K., et al. Cryptococcal meningitis in patients with or without human immunodeficiency virus: experience in a tertiary hospital. **Yonsei Med J**, v.52, n.3, p.482-7. 2011.

LEE, Y. C., WANG, J. T., et al. Comparisons of clinical features and mortality of cryptococcal meningitis between patients with and without human immunodeficiency virus infection. **J Microbiol Immunol Infect**, v.44, n.5, p.338-45. 2011.

LEIMANN, B. C. e KOIFMAN, R. J. Cryptococcal meningitis in Rio de Janeiro State, Brazil, 1994-2004. **Cad Saude Publica**, v.24, n.11, p.2582-92. 2008.

- LEITE, D. P., JR., AMADIO, J. V., et al. *Cryptococcus* spp. isolated from dust microhabitat in Brazilian libraries. **J Occup Med Toxicol**, v.7, n.1, p.11. 2012.
- LEONGSON, K., COUSINEAU-COTE, V., et al. Altered immune response differentially enhances susceptibility to *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* infection in mice expressing the HIV-1 transgene. **Infect Immun**, v.81, n.4, p.1100-13. 2013.
- LESSELLS, R. J., MUTEVEDZI, P. C., et al. Poor long-term outcomes for cryptococcal meningitis in rural South Africa. **S Afr Med J**, v.101, n.4, p.251-2. 2011.
- LIAO, C. H., CHI, C. Y., et al. Different presentations and outcomes between HIV-infected and HIV-uninfected patients with Cryptococcal meningitis. **J Microbiol Immunol Infect**, v.45, n.4, p.296-304. 2012.
- LIN, X., HULL, C. M., et al. Sexual reproduction between partners of the same mating type in *Cryptococcus neoformans*. **Nature**, v.434, n.7036, p.1017-21. 2005.
- LINDENBERG ADE, S., CHANG, M. R., et al. Clinical and epidemiological features of 123 cases of cryptococcosis in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v.50, n.2, p.75-8. 2008.
- LIPOVSKY, M. M., TSENOVA, L., et al. Cryptococcal glucuronoxylomannan delays translocation of leukocytes across the blood-brain barrier in an animal model of acute bacterial meningitis. **J Neuroimmunol**, v.111, n.1-2, p.10-4. 2000.
- LIU, X. Z., WANG, Q. M., et al. Phylogeny of tremellomycetous yeasts and related dimorphic and filamentous basidiomycetes reconstructed from multiple gene sequence analyses. **Stud Mycol**, v.81, p.1-26. 2015.
- LIZARAZO, J., ESCANDON, P., et al. Cryptococcosis in Colombian children and literature review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.109, n.6, p.797-804. 2014.
- LIZARAZO, J., ESCANDON, P., et al. Retrospective study of the epidemiology and clinical manifestations of *Cryptococcus gattii* infections in Colombia from 1997-2011. **PLoS Negl Trop Dis**, v.8, n.11, p.e3272. 2014.
- LIZARAZO, J., LINARES, M., et al. [Results of nine years of the clinical and epidemiological survey on cryptococcosis in Colombia, 1997-2005]. **Biomedica**, v.27, n.1, p.94-109. 2007.

- LOCKHART, S. R., IQBAL, N., et al. *Cryptococcus gattii* in the United States: genotypic diversity of human and veterinary isolates. **PLoS One**, v.8, n.9, p.e74737. 2013.
- LUGARINI, C., GOEBEL, C. S., et al. *Cryptococcus neoformans* Isolated from Passerine and Psittacine bird excreta in the state of Parana, Brazil. **Mycopathologia**, v.166, n.2, p.61-9. 2008.
- LUI, G., LEE, N., et al. Cryptococcosis in apparently immunocompetent patients. **Qjm**, v.99, n.3, p.143-51. 2006.
- MARCHIORI, P. E., LINO, A. M., et al. Neuroinfection survey at a neurological ward in a Brazilian tertiary teaching hospital. **Clinics (Sao Paulo)**, v.66, n.6, p.1021-5. 2011.
- MCCLELLAND, E. E., HOBBS, L. M., et al. The role of host gender in the pathogenesis of *Cryptococcus neoformans* infections. **PLoS One**, v.8, n.5, p.e63632. 2013.
- MERSHON-SHIER, K. L., VASUTHASAWAT, A., et al. In vitro C3 deposition on *Cryptococcus* capsule occurs via multiple complement activation pathways. **Mol Immunol**, v.48, n.15-16, p.2009-18. 2011.
- MEYER, W., CASTANEDA, A., et al. Molecular typing of IberoAmerican *Cryptococcus neoformans* isolates. **Emerg Infect Dis**, v.9, n.2, p.189-95. 2003.
- MEYER, W., MARSZEWSKA, K., et al. Molecular typing of global isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* by polymerase chain reaction fingerprinting and randomly amplified polymorphic DNA-a pilot study to standardize techniques on which to base a detailed epidemiological survey. **Electrophoresis**, v.20, n.8, p.1790-9. 1999.
- MIGUEZ, L. A. L. **Mapeamento e monitoramento dos maciços vegetais do município de Curitiba – PR**. Curitiba. 44 p. Monografia (Especialista em Qualidade de Vida Urbana) - Instituto de Engenharia do Paraná, Faculdade de Administração e Economia do Paraná (FESP). Curitiba, 2001.
- MIRZA, S. A., PHELAN, M., et al. The changing epidemiology of cryptococcosis: an update from population-based active surveillance in 2 large metropolitan areas, 1992-2000. **Clin Infect Dis**, v.36, n.6, p.789-94. 2003.

MITCHELL, D. H., SORRELL, T. C., et al. Cryptococcal disease of the CNS in immunocompetent hosts: influence of cryptococcal variety on clinical manifestations and outcome. **Clin Infect Dis**, v.20, n.3, p.611-6. 1995.

MITCHELL, T. G. e PERFECT, J. R. Cryptococcosis in the era of AIDS--100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. **Clin Microbiol Rev**, v.8, n.4, p.515-48. 1995.

MOHR, J. A., LONG, H., et al. In vitro susceptibility of *Cryptococcus neoformans* to steroids. **Sabouraudia**, v.10, n.2, p.171-2. 1972.

NAGOTKAR, L., SHANBAG, P., et al. Fulminant intracranial hypertension due to cryptococcal meningitis in a child with nephrotic syndrome. **Indian J Crit Care Med**, v.15, n.3, p.176-8. 2011.

NEILSON, J. B., FROMTLING, R. A., et al. *Cryptococcus neoformans*: size range of infectious particles from aerosolized soil. **Infect Immun**, v.17, n.3, p.634-8. 1977.

NEILSON, J. B., IVEY, M. H., et al. *Cryptococcus neoformans*: pseudohyphal forms surviving culture with *Acanthamoeba polyphaga*. **Infect Immun**, v.20, n.1, p.262-6. 1978.

NGAMSKULRUNGROJ, P., GILGADO, F., et al. Genetic diversity of the *Cryptococcus* species complex suggests that *Cryptococcus gattii* deserves to have varieties. **PLoS One**, v.4, n.6, p.e5862. 2009.

NIGAM, C., GAHLOT, R., et al. Central Nervous System Cryptococcosis among a Cohort of HIV Infected Patients from a University Hospital of North India. **J Clin Diagn Res**, v.6, n.8, p.1385-7. 2012.

NIGROVIC, L. E., SHAH, S. S., et al. Correction of cerebrospinal fluid protein for the presence of red blood cells in children with a traumatic lumbar puncture. **J Pediatr**, v.159, n.1, p.158-9. 2011.

NOSANCHUK, J. D., ROSAS, A. L., et al. Melanisation of *Cryptococcus neoformans* in human brain tissue. **Lancet**, v.355, n.9220, p.2049-50. 2000.

O'MEARA, T. R. e ALSPAUGH, J. A. The *Cryptococcus neoformans* capsule: a sword and a shield. **Clin Microbiol Rev**, v.25, n.3, p.387-408. 2012.

OKAGAKI, L. H. e NIELSEN, K. Titan cells confer protection from phagocytosis in *Cryptococcus neoformans* infections. **Eukaryot Cell**, v.11, n.6, p.820-6.

OKAGAKI, L. H., STRAIN, A. K., et al. Cryptococcal cell morphology affects host cell interactions and pathogenicity. **PLoS Pathog**, v.6, n.6, p.e1000953. 2010.

OKAMOTO, K., HATAKEYAMA, S., et al. *Cryptococcus gattii* genotype VGIIa infection in man, Japan, 2007. **Emerg Infect Dis**, v.16, n.7, p.1155-7. 2010.

OLSZEWSKI, M. A., NOVERR, M. C., et al. Urease expression by *Cryptococcus neoformans* promotes microvascular sequestration, thereby enhancing central nervous system invasion. **Am J Pathol**, v.164, n.5, p.1761-71. 2004.

PANACKAL, A. A., WUEST, S. C., et al. Paradoxical Immune Responses in Non-HIV Cryptococcal Meningitis. **PLoS Pathog**, v.11, n.5, p.e1004884. 2015.

PAPPAS, P. G., PERFECT, J. R., et al. Cryptococcosis in human immunodeficiency virus-negative patients in the era of effective azole therapy. **Clin Infect Dis**, v.33, n.5, p.690-9. 2001.

PARK, B. J., WANNEMUEHLER, K. A., et al. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. **Aids**, v.23, n.4, p.525-30. 2009.

PERFECT, J. R., DISMUKES, W. E., et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of america. **Clin Infect Dis**, v.50, n.3, p.291-322. 2010.

PYRGOS, V., SEITZ, A. E., et al. Epidemiology of cryptococcal meningitis in the US: 1997-2009. **PLoS One**, v.8, n.2, p.e56269. 2013.

QADIR, F., MANZOOR, K., et al. Disseminated cryptococcosis in a patient with nephrotic syndrome. **Indian J Med Microbiol**, v.24, n.2, p.141-3. 2006.

QADIR, I., ALI, F., et al. Isolated cryptococcal osteomyelitis in an immunocompetent patient. **J Infect Dev Ctries**, v.5, n.9, p.669-73. 2011.

QUINTERO, E., CASTANEDA, E., et al. [Environmental distribution of *Cryptococcus neoformans* in the department of Cundinamarca-Colombia]. **Rev Iberoam Micol**, v.22, n.2, p.93-8. 2005.

- RAMOS, A. N., MATIDA, L. H., et al. AIDS in Brazilian children: history, surveillance, antiretroviral therapy, and epidemiologic transition, 1984-2008. **AIDS Patient Care STDS**, v.25, n.4, p.245-55. 2011.
- REICHERT-LIMA, F., BUSO-LOPES, A. F., et al. Evaluation of antifungal combination against *Cryptococcus* spp. **Mycoses**. 2016.
- REIS-FILHO, J. B., MATAS, S. L. A., et al. Estudo comparativo do LCR de pacientes com neurocriptococose sem AIDS e com AIDS. **Rev. Inst. Med. trop.**, v.36, n.3, p.225-230. 1994.
- ROBERTSON, E. J., NAJJUKA, G., et al. *Cryptococcus neoformans* ex vivo capsule size is associated with intracranial pressure and host immune response in HIV-associated cryptococcal meningitis. **J Infect Dis**, v.209, n.1, p.74-82. 2014.
- ROY, M. e CHILLER, T. Preventing deaths from cryptococcal meningitis: from bench to bedside. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v.9, n.9, p.715-7. 2011.
- RUIZ, A., FROMTLING, R. A., et al. Distribution of *Cryptococcus neoformans* in a natural site. **Infect Immun**, v.31, n.2, p.560-3. 1981.
- SARAIVA, M., SANTOS, E. C., et al. Epidemiology of infectious meningitis in the State of Amazonas, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.48 Suppl 1, p.79-86. 2015.
- SATISHCHANDRA, P., MATHEW, T., et al. Cryptococcal meningitis: clinical, diagnostic and therapeutic overviews. **Neurol India**, v.55, n.3, p.226-32. 2007.
- SEATON, R. A., NARAQI, S., et al. Predictors of outcome in *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* meningitis. **Qjm**, v.89, n.6, p.423-8. 1996.
- SEEHUSEN, D. A., REEVES, M. M., et al. Cerebrospinal fluid analysis. **Am Fam Physician**, v.68, n.6, p.1103-8. 2003.
- SIDDIQUI, A. A., SHATTOCK, R. J., et al. Role of capsule and interleukin-6 in long-term immune control of *Cryptococcus neoformans* infection by specifically activated human peripheral blood mononuclear cells. **Infect Immun**, v.74, n.9, p.5302-10. 2006.

SINGH, N., LORTHOLARY, O., et al. Central nervous system cryptococcosis in solid organ transplant recipients: clinical relevance of abnormal neuroimaging findings. **Transplantation**, v.86, n.5, p.647-51. 2008.

SLOAN, D. J. e PARRIS, V. Cryptococcal meningitis: epidemiology and therapeutic options. **Clin Epidemiol**, v.6, p.169-82. 2014.

SMITH, I. M., STEPHAN, C., et al. Cryptococcosis due to *Cryptococcus gattii* in Germany from 2004-2013. **Int J Med Microbiol**, v.305, n.7, p.719-23. 2015.

SPRINGER, D. J., BILLMYRE, R. B., et al. *Cryptococcus gattii* VGIII isolates causing infections in HIV/AIDS patients in Southern California: identification of the local environmental source as arboreal. **PLoS Pathog**, v.10, n.8, p.e1004285. 2014.

SPRINGER, D. J., SAINI, D., et al. Development of an aerosol model of *Cryptococcus* reveals humidity as an important factor affecting the viability of *Cryptococcus* during aerosolization. **PLoS One**, v.8, n.7, p.e69804. 2013.

SRIKANTA, D., SANTIAGO-TIRADO, F. H., et al. *Cryptococcus neoformans*: historical curiosity to modern pathogen. **Yeast**, v.31, n.2, p.47-60. 2014.

STAUDACHER, C. e BASSI, R. M. A. D. **Distribuição de pombos urbanos (*Columba livia* Gmélin,1789) em Curitiba, Paraná,Brasil**. Curitiba. 52 p. Monografia(Especialização) - Setor de Ciencias Biológicas. Curso de Pós-Graduação em Epidemiologia de Vetores Importantes em Saúde Pública., Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

TAKAHARA, D. T., LAZERA MDOS, S., et al. First report on *Cryptococcus neoformans* in pigeon excreta from public and residential locations in the metropolitan area of Cuiaba, State of Mato Grosso, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v.55, n.6, p.371-6. 2013.

TSENG, H. K., LIU, C. P., et al. Microbiological, epidemiological, and clinical characteristics and outcomes of patients with cryptococcosis in Taiwan, 1997-2010. **PLoS One**, v.8, n.4, p.e61921. 2013.

TUGUME, L., MORAWSKI, B. M., et al. Prognostic implications of baseline anaemia and changes in haemoglobin concentrations with amphotericin B therapy for cryptococcal meningitis. **HIV Med**. 2016.

UEJIO, C. K., MAK, S., et al. Climatic Influences on *Cryptococcus gattii* Populations, Vancouver Island, Canada, 2002-2004. **Emerg Infect Dis**, v.21, n.11, p.1989-96. 2015.

VALLIM, M. A., NICHOLS, C. B., et al. A Rac homolog functions downstream of Ras1 to control hyphal differentiation and high-temperature growth in the pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. **Eukaryot Cell**, v.4, n.6, p.1066-78. 2005.

VARTIVARIAN, S. E., ANAISSIE, E. J., et al. Regulation of cryptococcal capsular polysaccharide by iron. **J Infect Dis**, v.167, n.1, p.186-90. 1993.

VECCHIARELLI, A., PIETRELLA, D., et al. The polysaccharide capsule of *Cryptococcus neoformans* interferes with human dendritic cell maturation and activation. **J Leukoc Biol**, v.74, n.3, p.370-8. 2003.

VIJAYAN, T., CHILLER, T., et al. Sensitivity and specificity of a new cryptococcal antigen lateral flow assay in serum and cerebrospinal fluid. **MLO Med Lab Obs**, v.45, n.3, p.16, 18, 20. 2013.

VILLENA, S. N., PINHEIRO, R. O., et al. Capsular polysaccharides galactoxylomannan and glucuronoxylomannan from *Cryptococcus neoformans* induce macrophage apoptosis mediated by Fas ligand. **Cell Microbiol**, v.10, n.6, p.1274-85. 2008.

VOELZ, K. e MAY, R. C. Cryptococcal interactions with the host immune system. **Eukaryot Cell**, v.9, n.6, p.835-46. 2010.

WICKES, B. L., MAYORGA, M. E., et al. Dimorphism and haploid fruiting in *Cryptococcus neoformans*: association with the alpha-mating type. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.93, n.14, p.7327-31. 1996.

WINGFIELD, T., JANI, M., et al. Cryptococcal meningitis in an HIV-negative patient with rheumatoid arthritis treated with rituximab. **Rheumatology (Oxford)**, v.50, n.9, p.1725-7. 2011.

ZARAGOZA, O., GARCIA-RODAS, R., et al. Fungal cell gigantism during mammalian infection. **PLoS Pathog**, v.6, n.6, p.e1000945. 2010.

ZARAGOZA, O., RODRIGUES, M. L., et al. The capsule of the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. **Adv Appl Microbiol**, v.68, p.133-216. 2009.

ZHENG, H., LI, M., et al. Gender-specific contributing risk factors and outcome of female cryptococcal meningoencephalitis patients. **BMC Infect Dis**, v.16, p.22. 2016.

ZHONG, Y. H., TAN, F., et al. Comparisons of presentations and outcomes of cryptococcal meningitis between patients with and without hepatitis B virus infection. **Int J Infect Dis**, v.20, p.31-6. 2014.

ANEXO A – Detalhamento das condições de base e drogas imunossupressoras em uso no diagnóstico de meningite criptocócica de cada paciente do grupo ID.

TABELA 28 - CONDIÇÕES DE BASE DOS PACIENTES DO GRUPO ID E DROGAS IMUNOSSUPRESSORAS EM USO NO DIAGNÓSTICO DE MENINGITE CRIPTOCÓCICA.

Condição de base	Droga imunossupressora
Transplante renal	Prednisona 20mg/d Azatioprina 50mg/d
Transplante renal	Prednisona 15mg/d Azatioprina 50mg/d
Transplante renal	Prednisona 15mg/d Azatioprina 50mg/d Ciclosporina 250mg/d
Transplante renal	Prednisona 15mg/d Azatioprina 75mg/d Ciclosporina 350mg/d
Transplante renal	Prednisona 15mg/d Azatioprina 150mg/d
Transplante renal	Prednisona Ciclosporina Mitomicina C
Glomerulonefrite membranosa e transplante renal	Prednisona 20mg/d Azatioprina 150mg/d
Lupus eritematoso sistêmico e Transplante renal	Prednisona 15mg/d
Linfoma de grandes células e Transplante renal	Prednisona 15mg/d Azatioprina 50mg/d
Transplante renal e hepatite C	Prednisona 15mg/d Azatioprina 100mg/d
Hepatite C, Doença de Berger e transplante de renal	Prednisona 12,5mg Micofenolato mofetil 2gr/d
Linfoma Hodgkin ^a	Mecloretamina Vincristina Procarbazina Prednisona
Linfoma Hodgkin	Vimblastina Dacarbazina Bleomicina Doxorrubicina
Linfoma Hodgkin	Quimioterapia (não especificada)
Cirrose hepática e hepatite C com sinais de insuficiência hepática (2 episódios de coma por encefalopatia hepática, varizes esofágicas e vários episódios de peritonite bacteriana espontânea) ^b	Não
Cirrose biliar primária e hepatite auto-imune CHILD B	Prednisona 60mg/d Azatioprina 50mg/d
Púrpura trombocitopênica idiopática crônica, hepatite autoimune e transplante hepático.	Prednisona 5mg/d Tacrolimus 6mg/d Micofenolato sódico 1200mg/d
Púrpura, anemia grave e esplenectomia.	Desconhecido
Esclerodermia.	Prednisona 20mg/d
Miastenia gravis	Prednisona 50mg/d Azatioprina 100mg/d
Hanseníase Virchowiana	Prednisona 40mg/d Talidomida 200mg/d

a- Último ciclo realizado 2 meses antes do diagnóstico de meningite criptocócica.

b- Paciente apresentou meningite criptocócica durante internação para transplante hepático.

ANEXO B – Escolaridade e ocupação, por grupo de acordo com estado imunológico e complexo de espécies.

TABELA 29 - IDADE, SEXO, ESCOLARIDADE E OCUPAÇÕES MAIS FREQUENTES DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO.

n	HIV + 200	ID 21	IC 26
Idade	35	37	46,5
mediana (IQR)	(29;40)	(28;45)	(35,7;58)
Sexo masculino n(%)	150 (75)	13 (61,9)	17 (65,4)
Escolaridade			
n (%)	36 (18)	9 (42,8)	6 (23)
0-8anos ^a	16	6	4
8 anos	7	0	0
8-11 anos	1	0	0
11 anos	3	3	1
Superior incompleto	4	0	0
Superior	5	0	0
Pós-graduação	0	0	1
Ocupação n (%)	191 (95,5)	21 (100)	25 (96,1)
Administrativos	15	2	0
Agricultor	1	2	3
Autônomo	16	1	1
Comerciante	13	3	3
Estudante	5	1	1
Madeireiro	4	1	3
Motorista	23	0	0
Operário	10	0	2
Pedreiro	21	0	2
Profissional da saúde	3	1	1
Serviços	17	4	1
Serviços gerais	40	4	4
Outros	23	1	4

a. Apenas um paciente descrito como analfabeto

b. Administrativos – administrador, cartorário, auxiliar de almoxarifado, digitador, contador, bancário, secretária.

c. Autônomo – pacientes declarados autônomos, desempregados, pensionistas e aposentados

d. Madeireiro – madeireiro, marceneiro, trabalhador de reflorestamento.

e. Motorista – motorista, caminhoneiro, manobrista, taxista, mecânico

f. Serviços gerais – doméstica, do lar, zelador, auxiliar de serviços gerais.

g. Serviços – Cobrado de ônibus, costureiro, cozinheiro, porteiro, recepcionista, segurança, vigia,

h. Profissional da saúde – enfermeiro, técnica de enfermagem, massoterapeuta, terapeuta ocupacional, farmacêutico.

i. Outros – andarrilho, adestrador de cães, agente penitenciário, cabeleireiro, estivador, estofador, funileiro, garçom, juiz de direito, lapidador, lutador de luta livre, manicure, minerador de cal, músico, pastor, professor, trabalhador do sexo, protético, químico, sapateiro, serralheiro, urbanista.

TABELA 30 - IDADE, SEXO, ESCOLARIDADE E OCUPAÇÕES MAIS FREQUENTES DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.

n	CECG 14	CECN 233
Idade	42,5	35
mediana (IQR)	(32,5;56,5)	(29;41)
Sexo masculino – n(%)	11 (78,5)	169 (72,5)
Escolaridade	4 (28,5)	47 (20,1)
n (%)		
0-8anos ^a	2	24
8 anos	0	7
8-11 anos	0	1
11 anos	1	6
Superior incompleto	0	4
Superior	0	5
Pós-graduação	1	0
Ocupação		
n (%)	12 (85,7)	225 (96,5)
Administrativos	0	17
Agricultor	0	6
Autônomo	0	18
Comerciante	2	17
Estudante	0	7
Madeireiro	1	7
Motorista	1	22
Operário	1	11
Pedreiro	2	21
Profissional da saúde	1	4
Serviços	0	22
Serviços gerais	2	46
Outros	2	27

- a. Apenas um paciente descrito como analfabeto
- b. Administrativos – administrador, cartorário, auxiliar de almoxarifado, digitador, contador, bancário, secretária.
- c. Autônomo – pacientes declarados autônomos, desempregados, pensionistas e aposentados
- d. Madeireiro – madeireiro, marceneiro, trabalhador de reflorestamento.
- e. Motorista – motorista, caminhoneiro, manobrista, taxista, mecânico
- f. Serviços gerais – doméstica, do lar, zelador, auxiliar de serviços gerais.
- g. Serviços – Cobrado de ônibus, costureiro, cozinheiro, porteiro, recepcionista, segurança, vigia,
- h. Profissional da saúde – enfermeiro, técnica de enfermagem, massoterapeuta, terapeuta ocupacional, farmacêutico.
- i. Outros – andarilho, adestrador de cães, agente penitenciário, cabeleireiro, estivador, estofador, funileiro, garçom, juiz de direito, lapidador, lutador de luta livre, manicure, minerador de cal, músico, pastor, professor, trabalhador do sexo, protético, químico, sapateiro, serralheiro, urbanista.

ANEXO C - Detalhamento dos achados clínicos na admissão**TABELA 31 - SINAIS E SINTOMAS NA APRESENTAÇÃO CLÍNICA, POR GRUPO, DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO.**

n	HIV + 195	ID 20	IC 26
Cefaléia	156 (80)	16 (80)	23 (88,5)
Duração em dias ^a	10 (5; 21)	7 (4; 20)	30 (10; 50)
Característica	79 (50,6)	8 (50)	11 (47,8)
Pulsátil	57 (72,1)	3 (37,5)	7 (63,6)
Continua	16 (20,2)	4 (50)	6 (54,5)
Aperto	10 (12,6)	0 (0)	2 (18,2)
Fotofobia	14 (17,7)	2 (25)	3 (27,3)
Fonofobia	8 (10,1)	2 (25)	3 (27,3)
Intensidade	56 (35,9)	3 (18,7)	5 (45,4)
Leve	2 (3,7)	0 (0)	0 (0)
Moderada	4 (7,1)	0 (0)	0 (0)
Forte	50 (89,3)	3 (100)	5 (100)
Localização	125 (80,2)	13 (65)	17 (65,4)
Frontal	60 (48)	5 (38,4)	4 (23,5)
Holocraniana	47 (37,6)	5 (38,4)	9 (52,9)
Occipital	19 (15,2)	1 (7,7)	4 (23,5)
Nucalgia	10 (8)	1 (7,7)	0 (0)
Febre	95 (48,7)	8 (40)	7 (26,9)
Temperatura em °C ^a	38,5 (38; 39)	38,3 (37,8; 38,9)	38,5 (38,2; 38,7)
Duração ^a	7 (3; 14,8)	5 (2; 6)	5 (1; 5)
Rigidez de nuca	99 (50,7)	3 (15)	11 (42,3)
Presente	53 (53,5)	3 (100)	10 (90,9)
Turvação visual	24 (12,3)	1 (5)	5 (19,2)
Duração ^a	6 (2,5; 15)		14,5 (11; 26)
Rebaixamento do nível de consciência	50 (25,6)	5 (25)	13 (50)
Duração	2 (1; 3,3)	5,5 (5,3; 5,8)	7 (3,5; 12)
Glasgow	88 (45,1)	9 (45)	10 (38,4)
Escore ^a	15 (14; 15)	15 (14; 15)	14 (11,5; 14)
Náuseas	61 (31,3)	7 (35)	6 (30)
Duração ^a	7,5 (4; 20,8)	25,5 (16; 30)	7 (4; 33,5)
Vômitos	118 (60,5)	8 (40)	17 (85)
Duração ^a	7 (3; 12)	21 (2; 30)	21 (6; 35)
Tosse	47 (24,1)	1 (5)	3 (11,5)
Duração ^a	15 (7; 60)		7
Dispneia	18 (9,2)	1 (5)	1 (3,8)
Duração ^a	12 (5,5; 18,8)		
Emagrecimento	67 (34,3)	2 (5)	11 (42,3)
Peso em Kg ^a	10 (6; 14)	3 (2; 4)	8 (5,5; 10)
Tempo ^a	60 (30; 90)	15,5 (8,2; 22,8)	30 (30; 45)
Déficit neurológico focal	37 (18,9)	2 (5)	12 (46,1)
Crises epiléticas	10 (5,1)	0 (0)	0 (0)

Dados descritos em n(%)

a – dados descritos em mediana (IQR)

TABELA 32 - SINAIS E SINTOMAS NA APRESENTAÇÃO CLÍNICA, POR GRUPO, DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES INFECTANTE.

n	CECG 13	CECN 228
Cefaléia	12 (92,3)	183 (85,5)
Duração em dias ^a	17 (7,75; 37,5)	10 (5; 28,5)
Característica	6 (50)	92 (50,2)
Pulsátil	3 (50)	64 (69,5)
Continua	3 (50)	23 (25)
Aperto	2 (33,3)	10 (10,9)
Fotofobia	0 (0)	19 (20,6)
Fonofobia	0 (0)	13 (14,1)
Intensidade	5 (41,6)	59 (32,2)
Leve	0 (0)	2 (0)
Moderada	0 (0)	4 (6,8)
Forte	5 (100)	53 (89,8)
Localização	9 (75)	146 (74,9)
Frontal	2 (20)	67 (45,9)
Holocraniana	5 (41,6)	56 (38,3)
Occipital	3 (25)	21 (14,4)
Nucalgia	0 (0)	11 (7,5)
Febre	3 (23)	107 (46,9)
Temperatura em °C ^a	39	38,5 (38; 39)
Duração ^a	5	6,5 (3; 14)
Rigidez de nuca	3 (23)	110 (48,2)
Presente	2 (66,6)	64 (58,2)
Turvação visual	2 (15,4)	28 (12,3)
Duração	15	7 (3; 15)
Rebaixamento do nível de consciência	4 (30,8)	64 (28,1)
Duração ^a	4,5 (1,8; 8,8)	2,5 (1,25; 5)
Glasgow	5 (41,6)	102 (44,7)
Escore ^a	14 (14; 15)	15 (14; 15)
Náuseas	3 (23)	71 (31,1)
Duração ^a	4 (2,5; 5,5)	8 (4; 21)
Vômitos	7 (53,8)	136 (59,6)
Duração ^a	30 (15; 40)	7 (3; 14)
Tosse	4 (30,7)	47 (20,6)
Duração ^a	30 (18,5; 45)	14 (7; 60)
Dispneia	1 (7,7)	19 (8,3)
Duração ^a		12 (5,5; 18,7)
Emagrecimento	4 (30,7)	76 (33,3)
Peso em Kg ^a	9,5 (8; 11)	10 (6; 14)
Tempo ^a	40 (30; 52,5)	60 (30;90)
Déficit neurológico focal	8 (61,5)	43 (18,8)
Crises epiléticas	0 (0)	10 (4,4)

Dados descritos em n(%)

a – dados descritos em mediana (IQR)

TABELA 33 - ALTERAÇÕES NEUROLÓGICAS ENCONTRADAS NA APRESENTAÇÃO, POR GRUPO DE ACORDO COM O ESTADO IMUNOLÓGICO.

Alteração neurológica ^a	HIV +	ID	IC
Perda de acuidade visual	1 (0,5)		1 (3,8)
Amaurose fugaz	1 (0,5)		
Anisocoria	6 (3)		
Diplopia	7 (3,6)	1 (5)	2 (7,7)
Desvio do olhar conjugado	1 (0,5)		
Paralisia facial	6 (3)		1 (3,8)
Hipoacusia	1 (0,5)		4 (15,4)
Paresia	12 (6,1)		1 (3,8)
Plegia		1 1 (5)	
Hipoestesia	1 (0,5)		
Parestesia	5 (2,5)		2 (7,7)
Disartria	5 (2,5)		2 (7,7)
Dismetria	4 (2)		1 (3,8)
Disdiadococinesia	2 (1)		1 (3,8)
Ataxia de marcha	1 (0,5)		1 (3,8)
Babinski unilateral	1 (0,5)		
Alucinações visuais	2 (1)		2 (7,7)
Declínio cognitivo			1 (3,8)

a – dados descritos em n (%)

TABELA 34 - ALTERAÇÕES NEUROLÓGICAS ENCONTRADAS NA APRESENTAÇÃO, POR GRUPO DE ACORDO COM O COMPLEXO DE ESPÉCIES.

Alteração neurológica n(%) ^a	CECG	CECN
Perda de acuidade visual	1 (7,7)	1 (0,4)
Amaurose fugaz		1 (0,4)
Anisocoria		6 (2,6)
Diplopia	1 (7,7)	9
Desvio do olhar conjugado		1 (0,4)
Paralisia facial	1 (7,7)	6 (2,6)
Hipoacusia	2 (15,4)	3 (1,5)
Paresia	1 (7,7)	12 (5,2)
Plegia		1 (0,4)
Hipoestesia		1 (0,4)
Parestesia	3 (23)	4 (1,7)
Disartria	2 (15,4)	5 (2,2)
Dismetria	1 (7,7)	4 (1,7)
Disdiadococinesia	1 (7,7)	2 (0,9)
Ataxia de marcha		2 (0,9)
Babinski unilateral		1 (0,4)
Alucinações visuais	1 (7,7)	3 (1,5)
Declínio cognitivo		1 (0,4)

a – dados descritos em n (%)

ANEXO C – Detalhamento dos achados em exames de imagem.**TABELA 35 - IMAGEM PULMONAR NA ADMISSÃO, DE ACORDO COM O GRUPO.**

Achados ^a	HIV +	ID	IC	CECG	CECN
n (%)	64 (32)	7 (35)	16 (61,5)	9 (64,3)	78 (33,5)
Normal	25 (39)	1 (14,3)	3 (18,7)	1 (11,1)	28 (35,9)
Abcesso	1 (1,5)				1 (1,3)
Atelectasia	3 (4,7)				3 (3,8)
Localização	2(I)				2(I)
	1(M)				1(M)
Aumento hilar	2 (3,1)				2 (2,5)
Broncograma	5 (7,8)			1 (11,1)	4 (5,1)
Localização	1			1	4(I)
	4(I)				
Cavitação	5 (7,8)	2 (28,5)			7 (9)
Localização	1	1 (M)			1
	1 (I)	1 (I)			2 (I)
	3 (S)				1 (M)
					3 (S)
Condensação	7 (11)	2 (28,5)	1 (6,2)	2 (22,2)	8 (10,2)
Localização	1 (B)	2(I)	1 (I)	1 (D)	1 (B)
	2 (D)			1 (I)	1 (D)
	1 (I)				3 (I)
	1 (M)				1 (M)
	2 (S)				2 (S)
Derrame pleural			1 (B) (6,2)		1 (B) (1,3)
Hiperinsuflação	2 (3,1)				2 (2,5)
Infiltrado intersticial	9 (14)		2 (12,5)	1 (11,1)	10 (12,8)
Localização	8 (D)		2 (D)	1(D)	9 (D)
	1 (H)				1 (H)
Infiltrado reticular	4 (6,2)				4 (5,1)
Localização	2 (D)				2 (D)
	1 (I)				1 (I)
	1 (S)				1 (S)
Massa	1 (1,5)		4 (25)	3 (33,3)	2 (2,5)
Localização	1 (I)		1 (H)	1 (M)	1 (H)
			1 (M)	3 (S)	1 (I)
			3 (S)		
Lesão micronodular	2 (3,1)	1 (14,2)	4 (25)	1 (11,1)	6 (7,6)
Localização	1 (D)	1	2 (D)	1 (S)	1
	1 (I)		1(I)		3 (D)
	1 (S)		2 (S)		2 (I)
					2 (S)
Lesão nodular	4 (6,2)	2 (28,5)	3 (18,7)	2 (22,2)	7 (9)
Localização	2 (D)	1(I)	1 (C)	1 (C)	2 (D)
	1 (I)	1 (S)	1 (I)	1 (S)	3 (I)
	1 (M)		1(S)		1 (M)
					1 (S)

a – dados descritos em números, e porcentagem dos exames realizados por grupo e subgrupo. A localização da lesão, quando disponível, foi descrita em número de lesões. (B) bilateral, (C) paracardíaca, (D) difusa, (H) hilar, (I) lobo inferior, (M) lobo médio, (S) lobo superior

TABELA 36 - ACHADOS NA IMAGEM ENCEFÁLICA REALIZADA NA ADMISSÃO, DE ACORDO COM O GRUPO.

Achados ^a	HIV +	ID	IC	CECG	CECN
n (%)	139 (69,5)	12 (60)	22 (84,6)	12 (85,7)	161 (69)
Normal	54 (38,8)	4 (33,3)	5 (22,7)	3 (25)	60 (37,2)
Calcificações	14 (10)	3 (25)	2 (9)	2 (16,6)	17 (10,5)
Localização	2 1 (F) 1 (P) 10 (V)	1(P) 2(V)	2 (P)	1 (P) 1 (V)	2 1 (F) 3 (P) 11 (V)
Microangiopatia	1 (0,7)		2 (9)		3 (1,8)
Lesão hiper ^b	1 (0,7)	1 (8,3)	1 (4,5)		3(1,8)
Localização	1 (HSA)	1 (G)	1 (R) 1(B)		
Lesão hipo ^c	32 (23)	3 (25)	9 (41)	7 (5,8)	37 (23)
Localização	4 1(A) 2 (C) 1 (E) 4 (F) 1 (J) 1 (L) 1 (O) 2 (P) 1 (U) 10 (V) 8 (W) 1 (Z)	1 (I) 2 (O) 1 (W)	1 (A) 1 (B) 3 (E) 1 (I) 1 (P) 1 (S) 2 (V) 1 (W)	1 (B) 3 (E) 1 (I) 1 (P) 2 (V) 1 (W)	3 2(A) 2 (C) 1 (E) 4 (F) 1 (I) 1 (J) 1 (L) 3 (O) 2 (P) 1 (S) 1 (U) 10 (V) 9 (W) 1 (Z)
Hidrocefalia	19 (13,6)	1 (8,3)	4 (18,1)		24 (14,9)
Lesão captante de contraste	6 (4,3)		2 (9)	1 (8,3)	7 (4,3)
Criptococoma	3 (2,1)		2 (9)	2 (16,6)	3 (1,8)
Atrofia	37 (26,6)	2 (16,6)	2 (9)		41 (25,5)
Edema	6 (4,3)			1 (8,3)	6 (3,7)

a - dados descritos em números, e porcentagem dos exames realizados por grupo e subgrupo. A localização da lesão, quando disponível, foi descrita em número de lesões. (A) fossa anterior, (C) caudado, (D) fossa média, (E) efeito massa, (G) meninge, (I) cápsula interna, (L) tálamo, (M) mesencéfalo, (N) ponte, (O) occipital, (P) parietal, (R) córtex, (S) fossa posterior, (T) temporal, (U) putame, (V) vários, (Y) ínsula, (W) gânglios da base.

b – lesão hipertensa na tomografia ou hiperintensa em FLAIR

c- lesão hipodensa ou hipointensa em FLAIR

ANEXO D – Detalhamento do tratamento antifúngico.

TABELA 37 - TRATAMENTO ANTIFÚNGICO, DE ACORDO COM O GRUPO.

	HIV +	ID	IC	CECG	CECN
Anfotericina B n(%)	171 (85,5)	14 (66,6)	24 (92,3)	13 (92,8)	198 (84,9)
Dose acumulada – mg	550 (250; 873)	1000 (600; 1050)	1100 (530; 1887,5)	950 (530; 1455)	550 (282,5; 980)
Dias de tratamento	15 (7; 27)	23 (13; 30)	24,5 (16; 63)	29 (16; 43)	16 (9; 27)
Fluconazol n(%)	116 (56)	10 (58)	13 (50)	6 (42,8)	133 (57)
400-1200mg/d					
Dias de tratamento	21 (9,5; 63)	46 (22; 305)	60 (19; 128)	65 (30; 134)	21 (10; 73,7)
Fluconazol n(%)					
100-300mg/d					
Dias de tratamento	44 (22)	7 (33,3)	8 (30,7)	4 (28,5)	56 (24)
				202 (105; 475)	29 (15; 154)
	27 (15; 163)	27 (20; 68)	78 (36; 202)		
Fluconazol 1200mg/d (n%)	5	1	0	0	6
Dias de tratamento	21 (20; 22)	23			22 (20; 22)
Fluconazol 800mg/d (n%)	33	0	6	4	35
Dias de tratamento	15 (7; 41)		31 (19; 45)	23 (15; 43)	17 (7; 42)
Fluconazol 600mg/d, n(%)	7	1	1	1	8
Dias de tratamento	19 (13; 24)	129	79	79	19 (13; 32)
Fluconazol 400mg/d, n(%)	85	8	10	4	99
Dias de tratamento	18 (9; 68)	55 (22; 352)	56(21; 96)	59 (22; 106)	21 (9; 84)
Fluconazol 300mg/d, n(%)	4	0	2	1	5
Dias de tratamento	20 (18; 22)		Min-max: (62; 135)	135	22 (19; 23)
Fluconazol 200mg/d, n(%)	33	5	4	2	40
Dias de tratamento	65 (13; 240)	29 (18; 81)	95 (43; 206)	Min-max: (135;1093)	34 (10; 183)
Fluconazol 150mg/d, n(%)	0	0	3	2	1
Dias de tratamento			17 (16; 76)	Min-máx: (17; 135)	16
Fluconazol 100mg/d, n (%)	7	1	0	0	8
Dias de tratamento	17 (16; 32)	26			21 (16; 30)
Itraconazol 200-400mg/d	5	1	4	2	8
Dias de tratamento	13 (7; 13,5)	121	26 (19; 37)	Min-máx (24;64)	13 (8; 24)
5-fluocitocina	3	1	1 ^b	2	3
Dias de tratamento	Min-máx (8; 94)	20	23	23	20 (14;57)
Isavuconazol, n(%)	0	0	3	3	0
Dias de tratamento			Min-máx: (37; 50)	Min-máx: (37; 50)	

a- 6 pacientes fizeram um segundo ciclo de fluconazol 400mg/d com duração mediana (IQR) de 68 dias (21; 132)

b - Este paciente fez um segundo ciclo de 5-fluocitocina, com duração de 43 dias.

ANEXO E – Detalhamento dos pacientes excluídos por ausência de sorologia conhecida para HIV.

TABELA 38 - PACIENTES EXCLUÍDOS POR AUSÊNCIA DE SOROLOGIA CONHECIDA PARA HIV, CONDIÇÃO DE BASE, IDADE, SEXO, ANO DE ADMISSÃO E ÓBITO POR PACIENTE.

Condição de base	Idade	Sexo	Ano de admissão	Óbito
Transplante renal e gota	42	M	1987	Sim
Lupus eritematoso sistêmico, nefrite lúpica	17	F	1988	Sim
Linfoma cutâneo tipo micose fungóide	52	M	1989	Sim
Nenhuma	55	F	1990	Sim
Linfoma T	63	M	1991	Sim
Hepatite B com sinais de insuficiência hepática	56	M	1992	Sim
Transplante renal, Diabetes melitus e hipertensão arterial sistêmica hepatite C e B, plaquetopenia	45	F	1994	Sim
Úlcera gástrica e cólon espástico	48	M	1994	Não
Nenhuma	11	F	1994	Não
Lúpus eritematoso sistêmico e nefropatia	21	M	1987	Sim
Lúpus eritematoso sistêmico e AVC prévio	40	F	1997	Sim
Linfoma MALT em cólon, sigmoide e reto	54	F	1999	Sim
Cirrose hepática	50	M	1995	sim
Diabetes melitus e hipertensão arterial sistêmica	48	F	2006	sim

APÊNDICE 1 - Quadros mostrando principais características metodológicas e achados de estudos anteriores avaliando características de LCR em pacientes acometidos por meningite criptocócica.

QUADRO 2 - PRINCIPAIS ESTUDOS QUE AVALIARAM AS CARACTERÍSTICAS DO LCR EM MENINGITE CRIPTOCÓCICA, E PRINCIPAIS RESULTADOS DO LCR, POR GRUPO ESTUDADO.

Autores, ano	Reis-Filho, 1994 ^a		Mitchell, 1995 ^b		Lee, S.J.; 2011 ^c			Lui, 2006 ^c		
Sorologia HIV para todos?	Não.		Sim, incluídos apenas pacientes imunocompetentes.		Sim.			Não, estudo inclui pacientes com criptococose, não só meningite.		
Grupos	Sem AIDS	Com AIDS	CE <i>C. neoformans</i>	CE. <i>C. gattii</i>	HIV+	HIV negativo	(p)	Imunocompetente	Imunodeficiente (todos)	(p)
N	41	23	8	23	11	9		16	15	
Pressão de abertura (cmH ₂ O)								32	23	
Células	243/mm ³	14/mm ³			285/μL	150/μL	0,87	108x10 ⁹ /L	35x10 ⁹ /L	0,03
Pleocitose (>5células)			8 (100)	20 (87)						
Proteínas	110mg/dL	81mg/dL						1,6g/L	0,8g/L	0,07
Glicose	42mg/dL	47 mg/dL			34mg/dL	31mg/dL	0,9	1,5mmol/L	1,9mmol/L	
MD positivo			5 (63)	14 (61)				62,5%	86,7%	
Cultura positiva			8 (100)	18 (78)	91%	78%	0,65			
Antígeno criptocócico			1:80 (mediana)	1:512 (mediana)	256	16	0,62	810	583	

a -Valores médios;

b - N (%);

c - Valores medianos, exceto quando especificado de outra forma

QUADRO 2 - PRINCIPAIS ESTUDOS QUE AVALIARAM AS CARACTERÍSTICAS DO LCR EM MENINGITE CRIPTOCÓCICA, E PRINCIPAIS RESULTADOS DO LCR, POR GRUPO ESTUDADO (CONTINUAÇÃO).

Autores, ano	Tseng, 2013 ^a					Jarvis, 2010 ^b			Liao, 2012 ^b		
Sorologia HIV para todos?	Não especificado na metodologia. (p) disponível apenas para comparação entre HIV- e HIV+					Sim, todos HIV+			Não especificado na metodologia		
Grupos	<i>C. neoformans</i>	<i>C. gattii</i>	HIV-	HIV+	(p)	Virgem de TARV	Em TARV	(p)	HIV+	HIV -	(p)
N	120	9	80	44		183	45		19	53	
Pressão de abertura	48 ≥ 250mmH ₂ O	6 ≥ 250mmH ₂ O	32 ≥ 250mmH ₂ O	22 ≥ 250mmH ₂ O	0,10				9/13 ^a ≥ 200mmH ₂ O	26/13 ^a ≥ 200mmH ₂ O	0,72
Células									2/μL ^b	107/μL ^b	0,003
Proteínas						1g/dL	1g/dL	0,98	37mg/dL ^b	106mg/dL ^b	0,054
Glicose						2,1mmol/L	1,6mmol/L	0,14	45mg/dL ^b	35mg/dL ^b	0,80
MD positivo						72%	56%	0,03	68%	61%	0,66
Cultura positiva						88%	78%	0,08			
Antígeno criptocócico ≥1:512	76	7	50	33	0,001				47%	43%	0,74

a. Descrito em N

b. Descrito em mediana, exceto quando especificado de outra forma

QUADRO 2 - PRINCIPAIS ESTUDOS QUE AVALIARAM AS CARACTERÍSTICAS DO LCR EM MENINGITE CRIPTOCÓCICA, E PRINCIPAIS RESULTADOS DO LCR, POR GRUPO ESTUDADO (CONTINUAÇÃO).

Autores, ano	Lee, Y.C. ;2011 ^a			Seaton, 1996 ^a			Chan, 2014		
Sorologia HIV para todos?	Não especificado na metodologia.			Não especificado na metodologia, pacientes HIV+ foram excluídos.			Não especificado na metodologia, estudo incluiu pacientes com criptococose, não só meningite		
Grupos	HIV+	HIV-	(p)	<i>C. gattii</i> - morte	<i>C. gattii</i> – sobrevivência	(p)	HIV+	HIV negativo	(p)
N	37	51		30	58		50	12	
Pressão de abertura (cmH ₂ O)	283	275	0,82	70% ≥200mmLCR	84,6% ≥200mmLCR	0,37	58% ≥200mmH ₂ O	41,7% ≥200mmH ₂ O	0,34
Células	3/mm ³	43,5/mm ³	<0,001	31,5/mm ³	91/mm ³	0,13			
Pleocitose (>5células)							41%	50%	0,61
Proteínas	59mg/dL	111mg/dL	0,003	0,83g/L	0,84g/L	0,9	52% >0,45g/L	66,7% >0,45g/L	0,52
Glicose	39% <40mg/dL	61% <40mg/dL	0,042	2,5mmol/L	1,9mmol/L	0,14	46% <2,5mmol/L	41,7% <2,5mmol/L	1,0
MD positivo	68,6%	50%	0,1	89,5%	94,3%	0,6	80%	50%	0,03
Cultura positiva							90%	75%	0,17
Antígeno criptocócico ≥1:512	70,6%	53,7%	0,13	1:2048	1:2048	0,77			

a. Descrito em mediana, exceto quando especificado de outra forma

QUADRO 2 - PRINCIPAIS ESTUDOS QUE AVALIARAM AS CARACTERÍSTICAS DO LCR EM MENINGITE CRIPTOCÓCICA, E PRINCIPAIS RESULTADOS DO LCR, POR GRUPO ESTUDADO (CONTINUAÇÃO).

Autores, ano	Jongwutiwes, 2008 ^a			Zhong, 2013 ^a			Zheng, 2016 ^a		
Sorologia HIV para todos?	Não especificado na metodologia.			Todos HIV-, em ambos os grupos havia pacientes com outras causas de imunodepressão.			Não especificado na metodologia.		
Grupos	HIV +	HIV -	(p)	Homens	Homens	(p)	Homens	Mulheres	(p)
N	137	6		77	77		77	31	
Pressão de abertura (cmH ₂ O)	25	25,5	0,79	266mmH ₂ O	266mmH ₂ O	0,27	266mmH ₂ O	271mmH ₂ O	0,66
Células	10	89	0,052			0,014			
Pleocitose (>5células)									
Proteínas	60	104	0,26	0,94g/L	0,94g/L	0,142	0,94g/L	0,86g/L	0,11
Glicose	45	34,5	0,62	2,08mmol/L	2,08mmol/L	0,009	2,08mmol/L	1,64mmol/L	0,8
MD positivo	81%	50%	<0,001						
Cultura positiva	84%	66%	0,31			0,009			
Antígeno criptocócico ≥1:1024	61%	16%	0,03						

a. Descrito em mediana, exceto quando especificado de outra forma

APÊNDICE 2 – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética.

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná - HCUFPR

PROJETO DE PESQUISA

Título: ESTUDO RETROSPECTIVO DOS CASOS DE NEUROCRYPTOCOSE ENTRE PACIENTES IMUNODEPRIMIDOS E IMUNOCOMPETENTES.

Pesquisador: tallulah spina silva

Versão: 2

Instituição: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

CAAE: 01806312.7.0000.0096

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 24456

Data da Relatoria: 24/05/2012

Apresentação do Projeto:

Pacientes internados no HC-UFPR no período de 28/09/1983 a 31/01/2013 com cultura positiva para *Cryptococcus* spp. identificadas no arquivo da Seção de Micologia do setor de Análises Clínicas do HC-UFPR terão seus prontuários revisados. Informações sobre características epidemiológicas e clínicas dos pacientes serão coletas e os sujeitos serão divididos em 3 grupos: pacientes com AIDS (Grupo 1), pacientes com outras causas de imunossupressão (Grupo 2) e pacientes sem causas de imunossupressão definidas (Grupo 3). Estes dados serão computados em planilhas do Excel e posteriormente analisados estatisticamente.

Objetivo da Pesquisa:

O estudo visa o reconhecimento de diferenças demográficas, clínicas e laboratoriais entre pacientes acometidos por neurocriptococose com ou sem fatores de imunossupressão.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são desprezíveis.

Os benefícios são evidentes pois a infecção poderá, eventualmente, ser abordada de forma diversa e mais condizente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é simples mas, se original, de interesse para a abordagem deste tipo de infecção entre os pacientes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Declarações de uso específico e de tomar públicos os resultados são apresentados.

O pedido de dispensa do TCLE é pertinente e bem apresentado.

Recomendações:

Não há recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após analisadas as respostas da pendências encaminhadas ao CEP, concluímos pela aprovação do projeto proposto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto conforme proposto para início da Pesquisa. Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

CURITIBA, 21 de Maio de 2012

Assinado por:
Renato Tambara Filho

APÊNDICE 3 - Folha de coleta de dados

FICHA DE COLETA DE DADOS Nº: _____																																																																																						
Nome: _____ RG: _____ Sexo F M Idade: _____ Peso: _____ Altura: _____ Proc. U R _____ Escolaridade: _____ Profissão: _____ Cor: _____ DN: _____ Doença de base: _____ Ativ. Risco _____																																																																																						
DADOS PRÉVIOS HIV + - Data do 1º teste + _____ Data Dx AIDS _____ Subtipo _____ Abriu AIDS c/ NC S N SIRS S N o Dx NC: CD8 _____ CD4 _____ CV _____ TARV no dx NC _____ iTARV _____																																																																																						
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Data</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>CD4/R</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>CD8</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>CV</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </table>										Data							CD4/R							CD8							CV																																																							
Data																																																																																						
CD4/R																																																																																						
CD8																																																																																						
CV																																																																																						
<input type="radio"/> DM Dx _____ Insulina <input type="radio"/> Complicações _____ <input type="radio"/> Desnutrição grave _____ IMC _____ <input type="radio"/> Tx Tipo transp. _____ Dt _____ <input type="radio"/> Dça enx x hosp. _____ Indicação _____ <input type="radio"/> Neoplasia _____ Dt dx _____ QTx/RTx (T e dose) _____ <input type="radio"/> Droga imunossup, dose e tempo _____ Indicação _____ <input type="radio"/> Insuf. Renal _____ Dt insuf _____ Freq. HD _____ <input type="radio"/> IG _____ IG parto _____ Desfecho feto _____ Complicações _____ S N Alcoolismo Sinais de insuf hepática _____ Dose _____ S N Tabagismo atual Carga: _____ <input type="radio"/> Cocaína _____ TGO _____ TGP _____ VGT _____ Alb _____ TAP _____ TTPA _____ TS _____ HbA _{1c} _____ Albumina _____ Ur _____ Cr _____																																																																																						
DADOS DA INTERNAÇÃO Dt internação _____ Dt Dx NC _____ Morte _____ Tto i - f _____ Coinfecção em SNC _____ Derivação/procNCx _____ Cripto em outro sítio _____ Necessitou Cx(3) N _____ Crise convulsiva S N Controlada S N Tipo _____ DAE _____ EEG _____																																																																																						
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Data</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Alentecimento</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>AI</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Predomínio</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </table>										Data							Alentecimento							AI							Predomínio																																																							
Data																																																																																						
Alentecimento																																																																																						
AI																																																																																						
Predomínio																																																																																						
APRESENTAÇÃO (na internação) Cefaleia _____ Turvação visual _____ INC _____ ECG _____ Náuseas _____ Febre _____ Vômitos _____ Tosse _____ Dispneia _____ Ataxia _____ Rigidez de nuca _____ Outros _____ Complicações: _____ Sequelas: _____																																																																																						
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Data</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Pa</td><td>Pf</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Cor</td><td>Aspc</td><td>IC</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>He</td><td>Leuc</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Linf-Neut-Monoc</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Glic</td><td>Ser</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Prot</td><td>Pandy</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Cult fun</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>MD</td><td>Latex</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Lactato</td><td>Ser</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Gr BAAR</td><td>VDRL</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </table>										Data							Pa	Pf						Cor	Aspc	IC					He	Leuc						Linf-Neut-Monoc							Glic	Ser						Prot	Pandy						Cult fun							MD	Latex						Lactato	Ser						Gr BAAR	VDRL					
Data																																																																																						
Pa	Pf																																																																																					
Cor	Aspc	IC																																																																																				
He	Leuc																																																																																					
Linf-Neut-Monoc																																																																																						
Glic	Ser																																																																																					
Prot	Pandy																																																																																					
Cult fun																																																																																						
MD	Latex																																																																																					
Lactato	Ser																																																																																					
Gr BAAR	VDRL																																																																																					
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Dia</td><td>Hb</td><td>Ht</td><td>Leu</td><td>Linf</td><td>Bast</td><td>Pq</td></tr> <tr><td>Dia</td><td>Hb</td><td>Ht</td><td>Leu</td><td>Linf</td><td>Bast</td><td>Pq</td></tr> </table>										Dia	Hb	Ht	Leu	Linf	Bast	Pq	Dia	Hb	Ht	Leu	Linf	Bast	Pq																																																															
Dia	Hb	Ht	Leu	Linf	Bast	Pq																																																																																
Dia	Hb	Ht	Leu	Linf	Bast	Pq																																																																																
Imagem: Rx tórax, RNM e TAC																																																																																						

APÊNDICE 4 -Resumos publicados em anais de congressos.

4.1 – CONGRESSO MUNDIAL DE NEUROLOGIA, VIENA -2013

Journal of the Neurological Sciences 333 (2013) 68–72



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of the Neurological Sciences

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jns



Abstracts / Journal of the Neurological Sciences 333 (2013) e579–e628

e623

Abstract – WCN 2013

No: 860

Topic: 36 – Other topic

Cryptococcus neoformans neoformans central nervous system infection in a patient with idiopathic CD4 lymphocytopenia mimicking progressive multifocal leucoencephalopathy (PML)

T.S. Silva^a, F.M. Branco Germiniani^a, M. Muro^b, A.C. Crippa^a, E.J. Piovesan^a, H.A.G. Teive^a, S.M. de Almeida^{a,b}. ^aNeurology, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil; ^bLaboratory, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil

Background: Cryptococcal brain infection is a life-threatening disease, mostly associated with varied causes of immunosuppression.

Objective: To report a case of an HIV negative patient who presented with idiopathic CD4 lymphocytopenia and neurocryptococcosis mimicking PML.

Patient and method: We report the case of an immunodeficient patient with brain *Cryptococcus neoformans neoformans* mimicking PML.

Results: A 46-year-old male patient was admitted due to chronic headache, with visual impairment and right-sided tremor. *Cryptococcus neoformans* var *neoformans* was identified in CSF and he underwent standard treatment. Repeated ELISA serologic HIV testing was negative. Five months after discharge he presented with an intracranial hypertension syndrome. A brain CAT scan disclosed bilateral white matter hypointense lesions with mass effect. Another treatment course for cryptococcosis was performed. Laboratory testing revealed a CD4⁺ count of 131 cells/mm³. Three months later, both his visual and neurological deficits progressed, as well as the brain lesions on CAT scan. After another two months, he presented with right-sided motor seizures, right hemiparesis and intracranial hypertension. Serologic *Cryptococcus* testing in the CSF was positive. Extensive investigation for immunodeficiency causes or organ dysfunction was negative. Brain MRI showed bilateral white matter lesions suggestive of PML. A brain biopsy disclosed infection by *Cryptococcus neoformans neoformans*. After another course of Amphotericin B, his motor deficit and brain MRI lesions resolved completely.

Conclusion: This patient with idiopathic immunosuppression showed clinical and MRI findings consistent with PML but pathology revealed an infection with mass effect by *Cryptococcus neoformans neoformans*, with improvement following etiological treatment.

doi:10.1016/j.jns.2013.07.2167

sequentially underwent MR spectroscopy (MRS) at 7 T MR scanner 7 days after operation. Euronal metabolites were measured within the tumor center, peripheral solid parts, adjacent normal-appearing tissue, and contralateral white-matter. All spectra were then quantified by LCModel.

Results: This C6 rat glioma model had a high degree of repeatability. A significant gradual increased concentration of NAA, Cr, Glu + Gln, macromolecule, and a decreased of Lac, Ala from the tumor center to the contralateral white matter were observed. Moreover, the highest level of Cho and Lip were also found in the tumor peripheral solid parts and tumor center, respectively. There were no significant differences in Ins and Tau peak among the four areas.

Conclusion: Our study provides a repeatable animal model for investigating biochemical specificity of glioma. The acquired MRS data supply additional information about the location of glioma potential border.

doi:10.1016/j.jns.2013.07.2168

Abstract – WCN 2013

No: 1490

Topic: 36 – Other topic

Facial palsy as an initial symptom of Lyme neuroborreliosis in an Austrian endemic area

W. Kindler, H. Wolf, K. Thier, S. Oberndorfer. LK St. Pölten, St. Pölten, Austria

Background: In areas endemic for *Borrelia burgdorferi*, facial palsy is a possible manifestation of neuroborreliosis. According to this all adult patients admitted with facial palsy to our hospital, are investigated for Lyme neuroborreliosis including CSF analysis.

Methods: In this retrospective analysis from 2007 until 2012, we identified 278 consecutive patients who were admitted with facial palsy. All 278 patients underwent clinical neurological examination. 249 of those patients underwent CSF analysis. Demographic and clinical data were analysed according to a protocol.

Results: In 14 out of 278 patients (5%), a definite diagnosis of Lyme neuroborreliosis according to the DGN criteria was established. Four patients were classified as possible Lyme neuroborreliosis. Median age of all patients (n = 18) with facial palsy and Lyme neuroborreliosis was 49 (m = 14/f = 4). CSF analysis revealed pleocytosis (median cell count 240/μl), elevated protein (median = 128 mg/dl), and glucose (median 56 mg/dl).

4.2 – VIII CONGRESSO LATINO AMERICANO DE EPILEPSIA, BUENOS AIRES – 2014

Epileptic Disorders

THE EDUCATIONAL JOURNAL OF THE INTERNATIONAL LEAGUE AGAINST EPILEPSY
[HTTP://WWW.EPILEPTICDISORDERS.COM](http://www.epilepticdisorders.com)

Congress

p088 Associação entre crise epiléptica e mortalidade em pacientes de diferentes status imunológicos com neurocriptococose acometidos pelas var. *neoformans* ou *gattii*

Spina Silva T¹, Moraes S², Strozzi I², de Paola L³, Silvado CE³, Muro MD⁴, Telles FDQ⁵, Almeida SMD⁶

¹Paraná Federal University, Neurology, Curitiba, Brazil, ²Paraná Federal University, Curitiba, Brazil, ³Paraná Federal University, Clinical Neurophysiology, Curitiba, Brazil, ⁴Paraná Federal University, Mycology, Curitiba, Brazil, ⁵Paraná Federal University, Infectology, Curitiba, Brazil, ⁶Paraná Federal University, Neuroinfectology, Curitiba, Brazil

Objetivo: Verificar a frequência de crises epilépticas (CE) em pacientes com neurocriptococose (var *neoformans* ou *gattii*) HIV+, HIV- imunodeficientes (ID) e imunocompetentes (IC) e a correlação com a mortalidade em cada um destes grupos.

Métodos: Estudo retrospectivo de pacientes com cultura positiva para *Cryptococcus spp.* no líquido cefalorraquidiano no período de 28/09/1983 a 05/08/2013.

Resultados: 186 prontuários foram analisados e divididos nos grupos (n[%]): HIV+ (146[78,5%]), imunodeficientes (20[10,7%]) e imunocompetentes (20[10,7%]), com idade mediana (IQR, em anos) de 34 (29,25-39); 39 (26,25-50) e 45,5 (34,75-53,5), sexo masculino em 73,9%, 60%, e 65% e frequência de CE de 18,5%, 20% e 10% ($p=0,62$ [HIV+ vs ID=1; HIV+ vs IC=0,5; ID vs IC=0,66] respectivamente. Nenhum dos 10 pacientes acometidos pela var *gattii* apresentou CE. A mortalidade nos pacientes com e sem CE nos grupos HIV+, ID e IC foi de, respectivamente, 56% e 44% ($p=0,089$), 100% e 62% ($p<0,0001$) e 50% e 44% ($p=0,395$). Houve diferença na mortalidade dos pacientes com crise ($p<0,001$; HIV+ vs ID=0,001; HIV+ vs IC=0,479; ID vs IC=0,0001) e sem crise ($p=0,013$; HIV+ vs ID=0,0158; HIV+ vs IC=1,11; ID vs IC=0,016) de grupos diferentes.

Conclusões: Paciente acometidos pela var. *gattii* não apresentaram CE, houve predomínio masculino em todos os grupos; pacientes ID com neurocriptococose tem maior mortalidade, a ocorrência de CE associa-se a mortalidade ainda maior.

Bibliografia:

1. Sloan DJ, Parris V. Cryptococcal meningitis: epidemiology and therapeutic options. *Clin Epidemiol* 2014; 6: 169-82.
2. Dorta-Contreras AJ. [Neurocryptococcosis as an emerging disease in immunocompetent patients]. *Rev Neurol* 2008;47: 504.

Association between epileptic attacks and mortality in patients with cryptococcal meningitis of different immunological status affected by var. *neoformans* or *gattii*

Spina Silva T¹, Moraes S², Strozzi I², de Paola L³, Silvado CE³, Muro MD⁴, Telles FDQ⁵, Almeida SMD⁶

¹Paraná Federal University, Neurology, Curitiba, Brazil, ²Paraná Federal University, Curitiba, Brazil, ³Paraná Federal University, Clinical Neurophysiology, Curitiba, Brazil, ⁴Paraná Federal University, Mycology, Curitiba, Brazil, ⁵Paraná Federal University, Infectology, Curitiba, Brazil, ⁶Paraná Federal University, Neuroinfectology, Curitiba, Brazil

Objective: To verify epileptic attacks (EA) frequency in patients with cryptococcal meningitis (var *neoformans* or *gattii*) HIV+, HIV- immunodeficient (ID) and immunocompetent (IC) and its correlation with mortality.

Methods: Retrospective study of patients with positive cerebrospinal fluid culture for *Cryptococcus spp.* in the period from 28/09/1983 to 05/08/2013.

Results: 186 patient records were analyzed and divided into groups (n[%]): HIV+ (146[78.5%]), HIV-immunodeficient (20[10.7%]) and immunocompetent (20[10.7%]), median age (IQR, in years) was 34 (29.25-39); 39 (26.25-50) and 45,5 (34.75-53.5), male sex was found in 73,9%, 60%, and 65% and EA frequency was 18,5%, 20% and 10% ($p=0,62$ [HIV+ vs ID=1; HIV+ vs IC=0,5; ID vs IC=0,66] respectively. None of 10 patients affected by var. *gattii* presented EA. Mortality in patients with and without EA between groups HIV+, ID and IC was, respectively, 56 and 44% ($p=0,089$), 100 and 62% ($p<0,0001$), 50 and 44% ($p=0,395$). There was a mortality difference between patients with EA ($p<0,001$; HIV+ vs ID=0,001; HIV+ vs IC=0,479; ID vs IC=0,0001) and without EA ($p=0,013$; HIV+ vs ID=0,0158; HIV+ vs IC=1,11; ID vs IC=0,016) from different immunological status.

Conclusions: Patients affected by var. *gattii* did not present EA, there was a predominance of male sex in all groups; patients ID with cryptococcal meningitis had higher mortality, EA occurrence was associated with an even higher mortality.

Bibliography:

1. Sloan DJ, Parris V. Cryptococcal meningitis: epidemiology and therapeutic options. *Clin Epidemiol* 2014; 6: 169-82.
2. Dorta-Contreras AJ. [Neurocryptococcosis as an emerging disease in immunocompetent patients]. *Rev Neurol* 2008;47: 504.

4.3 – XXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE NEUROLOGIA, CURITIBA – 2014

ARQUIVOS DE
NEURO-PSIQUIATRIA

Volume 72, Suppl 2, 2014, São Paulo, SP, Brazil

THE OFFICIAL JOURNAL OF THE ACADEMIA BRASILEIRA DE NEUROLOGIA

XXVI Congresso Brasileiro de Neurologia

related increased risks in pregnancy infections and HIV+ patients. **Conclusion:** The participants showed good knowledge about ways of infection, prevention and definitive host. In the topic symptoms and Zoonosis definition the proportion showed poor knowledge. Even most of the participants were low education, some percentages were acceptable.

P-552

OVERVIEW OF GEOGRAPHIC DISTRIBUTION OF PIGEON AND TREES POPULATIONS AND PATIENTS AFFECTED BY CRYPTOCOCCUS SR NEOFORMANS AND SP. GATTI MENINGITIS IN CURITIBA- PR

Silva TS¹, Muro MD¹, Telles Filho FQ¹, Vetorello M², Staudacher C², Miguez LAL², Almeida SM¹

¹UFPR; ²SECRETARIA DE SAÚDE DE CURITIBA; ³SECRETARIA DE MEIO AMBIENTE DE CURITIBA

Background: Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii are basidiomycete fungi which cause life-threatening meningeal infections. While specie neoformans has a global distribution in soil contaminated by pigeon droppings, specie gattii until recently has been regarded as a tropical and subtropical organism particularly in areas colonized by Eucalyptus. However, in South America both species were isolated from Eucalyptus, C. siamea Lam. and Prunus, specie neoformans was isolated from C. javanica, Caesalpinia peltophoroides and Anadenanthera and specie gattii from Corymbia ficifolia e Cephalocereus rosenii. In Brazil, few studies aimed a better understanding of Cryptococcus spp. endemicity and distribution, therefore it's possible that we are unaware of some possible environmental sources. **Objectives:** To describe the distribution of patients affected by cryptococcal meningitis treated in the Clinical Hospital at Curitiba and the distribution of pigeon and tree populations at this city. **Methods:** This study evaluated patient records from the last 30 years whose cerebrospinal fluid (CSF) culture was positive for Cryptococcus spp according to the Mycology laboratory of the Clinical Hospital at Curitiba. The address of each patient who lived in Curitiba was collected and processed by the Geographic Information System of Curitiba's Secretary of Health. Patients affected by specie neoformans were discriminated from those affected by specie gattii. Data about Curitiba's pigeon's and tree's distribution were obtained from Curitiba's Secretaries of Zoonosis and Environment archives. These geographic information was plotted in maps using the ArcGIS 9 software. **Results:** 489 positive CSF cultures for Cryptococcus spp were documented, of these, 150 corresponded to patients eligible to this study who lived in Curitiba. 139 patients were affected by sp. neoformans and 11 by sp. gattii. A Map was plotted pointing each patient's residence, discriminating those affected by specie neoformans from those affected by specie gattii. Curitiba's pigeon and trees population distribution overviews were plotted in maps apart. **Conclusions:** This study presented an overview of Curitiba's geographic distribution of patients affected by cryptococcal meningitis and potential ecological niches, and provided an insight into areas of suspicion of colonization. Once an area of suspicion of colonization is pointed out, these areas must be sampled to confirm the presence of Cryptococcus spp.

P-553

PATIENT'S PROFILE AT THE AMBULATORY OF COGNITIVE DISORDERS AT THE IRMANDADE DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE SÃO PAULO HOSPITAL

Albuquerque MS¹, Figueiredo JFV¹, Zetehaku AC¹, Mendes MP¹, Novo EM²

¹ISCMSP; ²UPM

Introduction: The aging of population is a worldwide phenomenon with direct consequences on public health systems. The incidence of dementia doubles every five years after age 65. There are few Brazilian studies about the etiological subtypes of dementia in our population. **Objective:** To determine patients profile referred to the Clinic for Cognitive Disorders at a Tertiary Hospital. **Method:** we reviewed the medical records of patients treated between July 2004 to July 2014 at Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo Hospital, incomplete or inappropriate referrals records were excluded. We analyzed sociodemographic data and etiological diagnoses. **Results:** After screening, 634 charts were included being 361 (56.9%) women and 273 (43.1%) men with a mean age of 68.4 (± 14.5) years at the first consultation, from those 136 (21.5%) patients had less than 60 years of age. 335 (52.8%) patients had scholasticity 04 years, 225 (35.5%) 512 years and 31 (4.9%) over 12 years. The average time of the permanence of the patient at the clinic was 16 months, while 27.6% of patients had only one evaluation. Of all patients, 63 (9.9%) had mild cognitive impairment, 86 (13.6%) with cognitive impairment without dementia and 65 (10.3%) has no diagnosis yet. We diagnosed 420 (66.2%) cases of dementia, of whom 225 (53.6%) have Alzheimer's disease, 55 (13.1%) Vascular Dementia, 15 (3.6%) Mixed Dementia, 47 (11.2%) Dementia Associated with Parkinson's Disease, 16 (3.8%) Frontotemporal Lobar Degeneration, 21 (5%) of Potentially Reversible Dementia and other diagnoses in a lower percentage. **Conclusion:** the Clinic for Cognitive Disorders is a service which admits patients referred from less complex services by prior screening, which explains the divergence between our data compared with literature. The results of this type of study, although not representing true population prevalence, can contribute to the Discussion about characteristics and complexity of the patients referred to a tertiary hospital considering that many could be followed at the primary health clinic.

P-557

PREHOSPITAL CARE OF STROKE SUSPECTED CASES PERFORMED BY SAMU MANAUS

Alves TLIA¹, Alves PP², Mota RSS¹, Sousa RAP¹, Rabelo RMP¹

¹HUGV - UFAM; ²SAMU

Introduction: stroke is a leading cause of death and disability in all countries. Almost 80% of strokes are ischemic, and the other 20% are hemorrhagic, and the mortality rate varies between 10 and 55%. In Brazil, the incidence ranges between 137 and 168 por 100.000 inhabitants considering the differences between the states and regions and the economic profiles of the population. Despite its obvious importance to Public Health, recent studies show that most of the population do not remember the number of the Medical Emergency Service (SAMU 192) neither recognize the signs and symptoms of the stroke. **Objective:** to determine how many suspected stroke cases were identified in a sample of 1017

medical records from patients who called SAMU – MANAUS, in October 2013, considering sex gender and time needed to hospital admission. **Results:** from 1017 medical records analyzed, 15 were suspicious for stroke, which corresponds to 1.47% of all records. Of all cases, 9 were men – 60% - and 6 were women – 40%. Time range necessary for the ambulance travel from the SAMU station until the hospital admission was divided in: below 30 minutes =5 patients; between 30 and 60 minutes =8 patients; and above 60 minutes =2 patients. **Conclusion:** the low quantity of stroke suspected cases is worrisome, knowing that it is much lower than the stroke suspected cases admitted in the hospitals. Unfortunately, the majority of people do not value enough or simply do not recognize the signs and symptoms of stroke, justifying the time delays to seek for medical assistance, even in days. Also, many patients go to any emergency hospital (in most of the times inadequate to give a full assistance) in other ways than the SAMU ambulance, which is not appropriate to the initial support needed for this disease. In Manaus, there is only one hospital - HPS João Lúcio Pereira Machado – a public service, fully prepared to give the standard treatment (endovenous thrombolysis). This fact is unknown by the population and by many physicians. It is noteworthy that time spent from the SAMU station to the emergency hospital do not correlate to the time in which the signs and symptoms begun. Actually, many of the patients were already beyond the time limit for venous thrombolysis. Obviously, this time delay worsens the recovery and survival of these patients and show the immediate requirement of propaganda and education of the population.

P-558

PREVALENCE OF ANXIETY AND DEPRESSION STUDY IN THE CLINIC OF THE ACADEMIC LEAGUE OF NEUROLOGY FROM THE UNIVERSITY CIDADE DE SÃO PAULO

Gomes JEC, Saracuzza JB, Peixe AAF, Vieira RO, Ishi HK, Pan EWP, Piccolo AC

¹ UNIVERSIDADE CIDADE DE SÃO PAULO

Introduction: Anxiety and depression are quite prevalent conditions in the population, most common among women, frequent in individuals with neurological disorders. **Methods:** Prospective study (Feb 2013 – May 2014) consecutively including patients assisted by the students in the clinic of the Academic League of Neurology at UNICID. Hamilton Rating Scales for Depression (D) were used considering (mild: 7-17, moderate: 18-24 and severe >24) and Anxiety (A) (mild: 1-7, moderate: 8-14 and severe >14), considered the associated diseases, medication and previous complaints, being the main author blinded to the study. **Results:** The study included 109 patients (32 men and 77 women) with a mean age of 48.07 years (range: 18-82). The anamnesis (evaluating spontaneous complaint) identified depression in 5 men and 12 women, besides anxiety in 4 men and 14 women. According to the Hamilton Scale, among men (n=32), 23 (71.8%) presented depression: mild (13), moderate (7) and 3 with severe depression; anxiety detected in 8 (25%): mild (3), moderate (3) and severe in 2. Among women (n=77), 51 (66%) were diagnosed with depression by the scale: mild (29), moderate (13) and 9 with severe depression; 30 women (38%) presented anxiety: mild (12), moderate (7) and in 11 severe anxiety. Pain was the main associated symptom (41.8%) and prevailing the co-morbidities (scales A and D (+)): Headache (15), Multiple

APÊNDICE 5 – Artigo publicado em periódico



Received: 11 April 2016 | Revised: 27 July 2016 | Accepted: 28 July 2016

DOI: 10.1111/myc.12550

ORIGINAL ARTICLE

WILEY mycoses

Geographic distribution of patients affected by *Cryptococcus neoformans*/*Cryptococcus gattii* species complexes meningitis, pigeon and tree populations in Southern Brazil

Tallulah Spina-Tensini¹ | Marisol Dominguez Muro² | Flávio Queiroz-Telles³ |
 Isabella Strozzi⁴ | Samia Talise Moraes⁴ | Ricardo Rasmussen Petterle⁵ |
 Marcelo Vettorello⁶ | Claudia Staudacher⁷ | Luiz Alberto Lopes Miguez⁸ |
 Sérgio Monteiro de Almeida^{9,10}

¹Department of Neurology, Clinical Hospital of Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil

²Laboratory of Mycology, Clinical Hospital of Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil

³Infectious diseases Ambulatory, Clinical Hospital of Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil

⁴Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil

⁵Health Sciences Section, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil

⁶Municipal Health Secretary, Curitiba City Hall, Curitiba, Brazil

⁷Zoonosis Control Centre, Curitiba City Hall, Curitiba, Brazil

⁸Geoprocessing Centre – SMMA, Curitiba City Hall, Curitiba, Brazil

⁹Department of Neuroinfections, Clinical Hospital of Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil

¹⁰Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe, Curitiba-PR, Faculdades Pequeno Príncipe, Curitiba, Brazil

Correspondence

Sérgio Monteiro de Almeida, Hospital de Clínicas – UFPR, Seção de Virologia, Setor Análises Clínicas Rua Padre Camargo, 280 Curitiba – PR – Brazil 80060-240. Telephone/Fax: 55 (41) 3360-7974. Email: sergio.ma@ufpr.br

Summary

Cryptococcal meningitis is mainly caused by members of the *C. neoformans*/*C. gattii* species complexes. The ecological niches of *Cryptococcus* species have extensively been studied, but its epidemiological relationship with meningitis cases is still unknown. In this study, we estimate the relationship between cryptococcal meningitis cases and tree and pigeon populations, the classical niches of members of *C. neoformans*/*C. gattii sensu lato*. We analysed the records of every patient whose cerebrospinal fluid culture yielded *Cryptococcus* spp. during the last 30 years at Clinical Hospital of Curitiba. Data about Curitiba's pigeon and tree distribution were obtained from Curitiba's Secretaries of Zoonosis and Environment archives. We used ArcGIS9 software to plot the distribution of the pigeon and tree populations in this city as well as cryptococcal meningitis cases, distinguishing them according to the causal agent in *C. neoformans* or *C. gattii s.l.* In total, 489 cryptococcal cultures were documented, with 140 corresponding to patients eligible for this study (134 affected by *C. neoformans s.l.* and 6 by *C. gattii s.l.*). The map showed a relationship between *C. neoformans s.l.* patients and pigeon population. *C. gattii s.l.* patients were associated with neither tree nor pigeon populations, but lived close to large unbuilt, unforested areas.

KEYWORDS

C. gattii species complex, *C. neoformans* species complex, CSF, georeferencing, HIV

1 | INTRODUCTION

Cryptococcal meningitis is a life-threatening infection caused by *Cryptococcus* spp., an encapsulated saprophytic yeast with worldwide distribution.¹ The taxonomy of the genus *Cryptococcus* has been extensively revised and varieties and genotypes have been

raised to the species level.^{2–4} Between all species, *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* species complexes are the main human pathogens.^{5,6} Both are transmitted by inhalation and once in the alveoli, they may cause lung infections of variable extent and dissemination to other sites, especially to the CNS, via the bloodstream.^{6–8}

Most patients affected by *C. neoformans sensu lato* have some kind of defective cell-mediated immunity; also, cryptococcal meningitis is one of the most important HIV-related opportunistic infections.^{9–11} Many studies have suggested that the *C. gattii* species complex affects mainly immunocompetent patients.^{12,13} This dogma has been changed by new evidence showing that some species of *C. gattii* species complex are actually isolated from immunocompromised individuals.^{14,15} Knowledge about *C. neoformans s.l.* epidemiology is equally based on constant construction, as shown by a higher prevalence of immunocompetent patients affected by *C. neoformans* described as genotype VNlc in China and Korea.^{16–18}

It was formerly considered that *C. neoformans s.l.* has a global distribution in soil contaminated by pigeon droppings, while *C. gattii sensu lato* is a tropical and subtropical organism particularly in areas colonised by *Eucalyptus*.¹⁹ However, infections caused by *C. gattii s.l.* out of tropical and subtropical areas, including Europe and temperate zones of Australia, have been reported since the 1980s.²⁰ It was following the cryptococcal outbreak on Vancouver Island,^{21,22} however, that this matter was brought into the spotlight. Since then, other studies have further enlightened this issue, showing a broader distribution of the ecological niches of *Cryptococcus*.^{1,23–26}

Knowledge about the taxonomy, epidemiology and global distribution of *C. neoformans/C. gattii* species complexes has expanded in the recent years. Brazil is one of the countries where the environment has been more extensively surveyed for *C. neoformans/C. gattii* species complex isolates, second to the USA.¹ Thus, many researchers have highlighted the occurrence of *C. neoformans/C. gattii* species complexes in the urban environment,^{24,25,27,28} but none have studied the geographical correlation between classical *C. neoformans/C. gattii* species complex niches and cases of cryptococcal meningitis.

Curitiba is the capital of Paraná state, Southern Brazil and one of the biggest cities in this country. Before its colonisation, its lands were covered with an "Araucaria forest" so-called due to the large quantity of *Araucaria angustifolia*, a *Coniferophyta* tree, symbol of Paraná state, also called Paraná-pine.²⁹ Although most of the original trees were felled, many rules and municipal laws contributed to Curitiba being today among the most afforested cities in Latin America, counting 51 m² of green area per capita.²⁹ Even though most of its total green

area, as expected for one of the biggest cities in Brazil, is located at city borders, the urban area is also full of woods, reforestation areas and large parks, amassing up to 1 400 000 m².²⁹

Because of the large human and tree population, in addition to a large number of cerebrospinal fluid (CSF)-positive cultures for *Cryptococcus* spp. from patients living in this city, Curitiba is an interesting location to study the geographical relation between cryptococcal meningitis cases and the classical niches of its pathogen.

The objectives of this study were to plot on a map and describe the distribution of patients living in Curitiba affected by cryptococcal meningitis treated in the Clinical Hospital of Curitiba (HC-UFPR), the distribution of pigeon and tree populations in this city. Then, the study will analyse whether geographical relations between the cases and pigeons or trees may be observed.

2 | MATERIALS AND METHODS

This study was approved by HC-UFPR IRB (no. 01806312.7.0000.0096).

2.1 | Patient recruitment

Every patient whose CSF was positive for *Cryptococcus* spp. after culture in Sabouraud, Niger and Brain-heart infusion media from September 1983 to August 2013 in the Mycology laboratory of HC-UFPR was included in this study. The identification of *Cryptococcus* species complexes was determined by canavanine glycine bromothymol blue agar medium (CGB)³⁰ and further classified into *C. neoformans* or *C. gattii* species complex.

The medical record of each patient was reviewed and data about gender, age, immunological status and address were collected. Patients who did not live in Curitiba at the time of diagnosis and patients with no data available were excluded.

Patients were classified according to their immunological status into the following groups: HIV positive (HIV+), immunocompetent (IC), HIV negative but immunodeficient due to other causes (ID) and unknown (U). Figure 1 shows the included and excluded isolates and patients, the *Cryptococcus* species identification and patient immunological status.

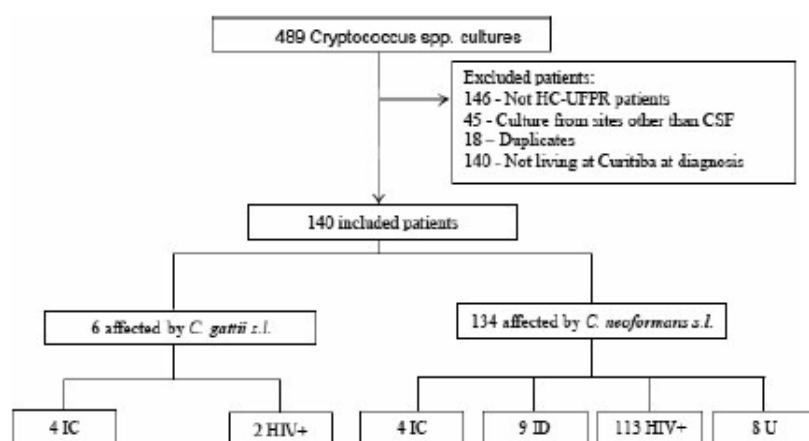


FIGURE 1 Flow chart detailing excluded patients and classification of included patients evaluated in this study. IC, immunocompetent; HIV+, HIV positive; ID, immunodeficient due to other causes, HIV negative; U, HIV unknown serology

2.2 | City characteristics

Located at 945 m above sea level (25° 25' 40"S, 49° 16' 23"W), in the Southern region of Brazil, Curitiba has a subtropical climate with an average temperature of 13°C (winter) to 21°C (summer) and an average rainfall of 1500 mm/year. Its 2009 population census was 1 864 416 inhabitants,³¹ and the Municipal human development index (IDHM) was 0.823.³²

2.3 | Georeferencing

The address of each patient who lived in Curitiba was processed by the Geographic Information System of Curitiba's Secretary of Health. Patients affected by *C. neoformans* s.l. were distinguished from those affected by *C. gattii* s.l.

Data about Curitiba's pigeon and tree distribution were obtained from Curitiba's Secretaries of Zoonosis and Environment archives based on surveys conducted in the year 2000.^{33,34} Curitiba's tree population was classified into six groups according to its typology: 1 – Bushland with *Araucaria angustifolia*, 2 – Bushland without *Araucaria angustifolia*, 3 – Secondary forest in regeneration, 4 – Bracatingal (high density of *Mimosa scabrella*, a large angiosperm tree native to South Brazil), 5 – Reforestation and 6 – Riparian forest (forests around rivers and valley bottoms).^{34,35} Environmental protection areas (APA) are lands reserved for the preservation of native biodiversity. They may be areas from public or private domains, which are generally large, may have some human occupation and are protected by specific rules. The main APAs in Curitiba (Passaúna's APA and Iguaçu's APA) were also plotted on the map.

The geographic information about pigeon and tree populations and patient's residences were plotted in the maps using the ArcGis 9 software (ESRI- Environmental Systems Research Institute, Redlands, CA, USA).

2.4 | Statistical analysis

Data about gender, age and immunological status were analysed through Software R 3.2.3 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) and the *P* value was obtained by the two-tailed sample for equality of proportions, by Mann-Whitney for comparison between two groups, and by Kruskal-Wallis when the difference between four groups was sought. We considered *P* values <0.05 to be statistically significant.

3 | RESULTS

In total, 489 positive cultures for *Cryptococcus* spp. were documented. Of these, 286 were CSF cultures and 140 corresponded to patients who were eligible for this study. *Cryptococcus* species: 134 (96%) patients were affected by *C. neoformans* s.l. and six (4%) by *C. gattii* s.l. (*P* < 0.0001).

3.1 | Patient characteristics

Overall, 107 (76%) patients were male (*P* < 0.0001), with a median (IQR) age of 35 years (30; 44) and 115 were HIV+ (82%, *P* < 0.0001).

The median (IQR) age of the six patients affected by *C. gattii* s.l. was 48 years (41; 56), and five (83%) patients were male (*P* = 0.08).

Among the 134 patients affected by *C. neoformans* species complex, the median (IQR) age was 35 years (30; 44), and 102 (76%) patients were male (*P* < 0.0001). When the sex of these patients was analysed according to immunological status, the only group with a statistically significant male predominance was the HIV+ group (*P* < 0.0001).

The immunocompromising conditions of patients in the ID group were hepatic failure (one patient) and the use of immunosuppressant drugs due to other conditions (one lupus + kidney transplant, one autoimmune hepatitis, one Hansen disease, two kidney transplant + virus C hepatitis, one myasthenia, one lymphoma + kidney transplant and one kidney transplant).

There was no statistical difference in gender between patients affected by *C. gattii* s.l. (83% male) or *C. neoformans* s.l. (76% male) (*P* = 1), but patients affected by *C. gattii* species complex were older than those affected by *C. neoformans* s.l. (*P* < 0.05).

Demographic characteristics according to cryptococcal species and immunological status are shown and compared in Table 1.

The immunological status of patients affected by *C. neoformans* and *C. gattii* species complexes is shown in Fig. 2 and the distribution of meningitis diagnoses per year is shown in Fig. 3.

The map highlighting the geographic distribution of each patient affected by *C. neoformans* or *C. gattii* species complexes meningitis, pigeon and tree populations is shown in Fig. 4.

4 | DISCUSSION

Most patients were male, HIV+ and affected by *C. neoformans* s.l. Only 4.4% of our patients were affected by *C. gattii* s.l. (*P* < 0.0001), 66.6% of which were immunocompetent. These data are in accordance with other studies.^{10,12,36–38} Patients affected by *C. gattii* s.l. were older than those affected by *C. neoformans* s.l. (*P* < 0.05), similar to that found in a German study.¹²

In this study, the predominance of male gender may be partly explained by the still high male to female ratio for the incidence of HIV. Although it has decreased from 18.9:1 in 1984 to 1.5:1 in 2004³⁹, it has remained stable at this ratio in Southern Brazil for the last 10 years.⁴⁰ Also, the gender of the host may account for cryptococcal pathogenesis as oestrogen was shown to inhibit *Cryptococcus* growth in vitro,⁴¹ and male macrophages were shown to be more susceptible to cell death and have a higher fungal burden in cryptococcal infections.⁴²

The rising number of cryptococcal meningitis cases during the HIV epidemic years^{43,44} and its decrease in the post-HAART era⁴⁴ has been previously described.⁴⁵ These phenomena was also seen in this study, with an increase in the number of *C. neoformans* s.l. meningitis cases in the 1990s and a decrease after free antiretroviral treatment

TABLE 1 Gender and age of patients affected by *C. neoformans* and *C. gattii* species complex according to immunological status

	<i>C. gattii</i> s.l. patients			<i>C. neoformans</i> s.l. patients				(p)	(p) <i>C. gattii</i> / <i>C. neoformans</i> s.l. patients
	IC	HIV+	(p)	IC	HIV+	ID	U		
N (%)	4 (67)	2 (33)	p=.6	4 (3)	113 (84)	9 (7)	8 (6)	IC/HIV+ P<.0001 IC/ID P=.25 HIV+/ID P<.0001	IC/IC P<.001 HIV+/HIV+ P<.005
Male (%)	3 (75)	2 (100)	p=.1	3 (75)	89 (79)	5 (55)	5 (62)	IC/HIV P=.1 IC/ID P=.9 HIV+/ID P=.2	IC/IC P=.1 HIV+/HIV+ P=.1
Median age in years	54	35.5 ^a	p=.1	45.5	35	37	49	.06	HIV+/HIV+ P=.88
(IQR)	(49;60)			(37;54)	(30;41)	(30;43)	(42;51)		IC/IC P=.47

IC, immunocompetent; HIV+, HIV positive; ID, immunodeficient due to other causes HIV negative; U, HIV unknown serology.

(P) – P value for comparison between subgroups.

(p) *C. gattii*/*C. neoformans* species complexes – P value for comparison between patients of same immunological status but affected by different species complexes of *Cryptococcus*.

^aAverage (years).

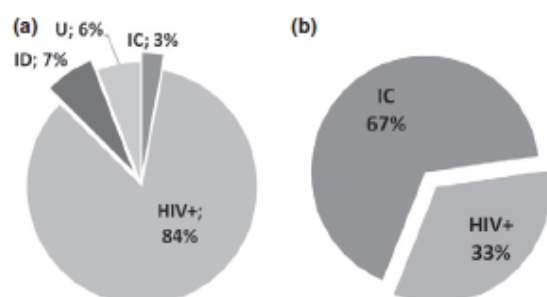


FIGURE 2 HC-UFPR Patients living in Curitiba diagnosed with cryptococcal meningitis between 1983 and 2013 and their immunological status (a) patients affected by *C. neoformans* s.l. and (b) patients affected by *C. gattii* s.l.

was warranted in 1996 and HAART became more broadly available in the 2000s.^{39,46–49}

Cryptococcus gattii s.l. meningitis frequency remained stable during the study period, making our trend quite different from those reported for the British Columbia *C. deutorogattii* (VGIIA/AFLP6A)⁵⁰ infection outbreak.¹³

It has been shown that climate influences *C. gattii* s.l. concentration in the soil, air and trees.¹⁴ Elevated temperature was associated with a decreased concentration of *C. gattii* s.l. in the soil and trees samples.¹⁴ Also, windy days were associated with a lower concentration of airborne *C. gattii* s.l.¹⁴ On the other hand, *C. gattii* s.l. in the air and trees was boosted by higher exposure to solar radiation.¹⁴ Another study showed a predilection of *C. neoformans*/*C. gattii* species complexes to temperatures between 12 and 18°C and high altitudes.⁵¹ Curitiba is considered a cold, high-altitude city by Brazilian standards, which could favour *Cryptococcus* proliferation. Its 1500 mm/year of rainfall, however, probably do not help cryptococcal promotion.

Although pigeons are not natural carriers of *C. neoformans* s.l.,⁵² this fungus is commonly found as saprophyte in pigeon

droppings^{25,28} and other bird droppings,⁵³ particularly after it has dried.^{23,53,54} Also, *Cryptococcus* spp. have been isolated from other dry sites such as soil⁵⁵ and dust.^{24,27} Furthermore, incubation in dry soil leads to smaller cryptococcal cells, possibly raising the probability of aerosolisation and aspiration.⁵⁶ As a city with wet weather, dry soil or dust are not very common in Curitiba. On the other hand, a higher air relative humidity showed to increase both desiccated *Cryptococcus* aerosol concentration and mice lung retention.⁵⁷ Thus, patients living in Curitiba may be exposed to a higher concentration of cells when in close proximity to a cryptococcal source due to the high median relative humidity of this city (85% during 2015).⁵⁸

Cryptococcus gattii s.l. was first isolated from *Eucalyptus camaldulensis* by Ellis and Pfeiffer.⁵⁹ In South America, *C. gattii* and *C. neoformans* species complexes were isolated from *Eucalyptus* and many other tree species,^{1,26,45,60,61} but no study sought to isolate them from *Araucaria angustifolia*. In one study of *Cryptococcus* sources, 99% of plant samples yielded *C. gattii* s.l. and 1% *C. neoformans* s.l.²³ All isolates from avian droppings were from *C. neoformans* s.l.²³ A Brazilian study, however, collected 290 samples from pigeon droppings and material associated with eucalyptus trees, but none of the 41 *Cryptococcus* isolates were from *C. gattii* s.l.²⁵

Another study found *C. gattii* s.l. more frequently in the top 15 cm of soil than in trees.²¹ If this is also the case in Curitiba, it seems to be a reasonable explanation for why there was no clear correlation between trees and cryptococcal meningitis cases, but a relationship between large unbuild non-forested areas and the *C. gattii* s.l. cases was observed.

It has been previously suggested that most people are exposed to *Cryptococcus* spp. early in childhood.⁶² Therefore, patients affected by cryptococcal meningitis may have been infected at any time during their lives. We found, however, some clusters of patients around Curitiba, while other particular neighbourhoods remained free of cases throughout the 30-year study period. Since these gatherings do not seem to be related to population density nor to

FIGURE 3 Temporal distribution (per year) of meningitis diagnosis due to *C. neoformans* or *C. gattii* s.l. affecting HC-UFPR patients living in Curitiba during the period 1983–2013. *C. neoformans* s.l. infection showed an upward trend during the 1990s and a downward trend during the 2000 decade, apparently stabilising after 2010. Although two peaks of *C. gattii* s.l. infection were seen in 1994 and 2002, the low number of affected patients does not imply in epidemics; *C. gattii* s.l. infection was shown to be stable in the studied period

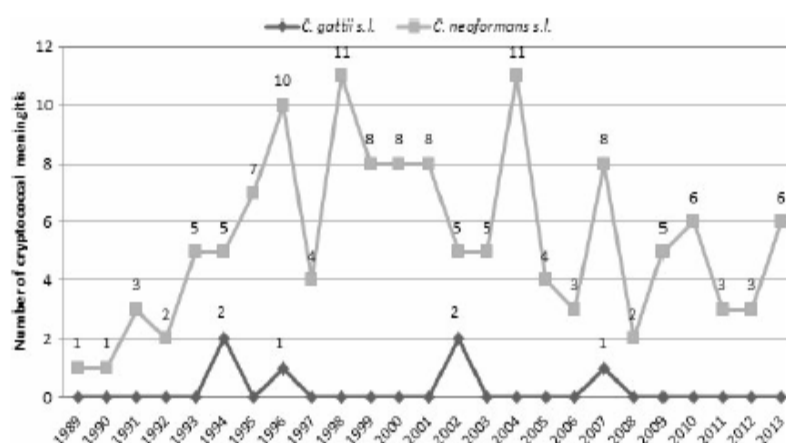
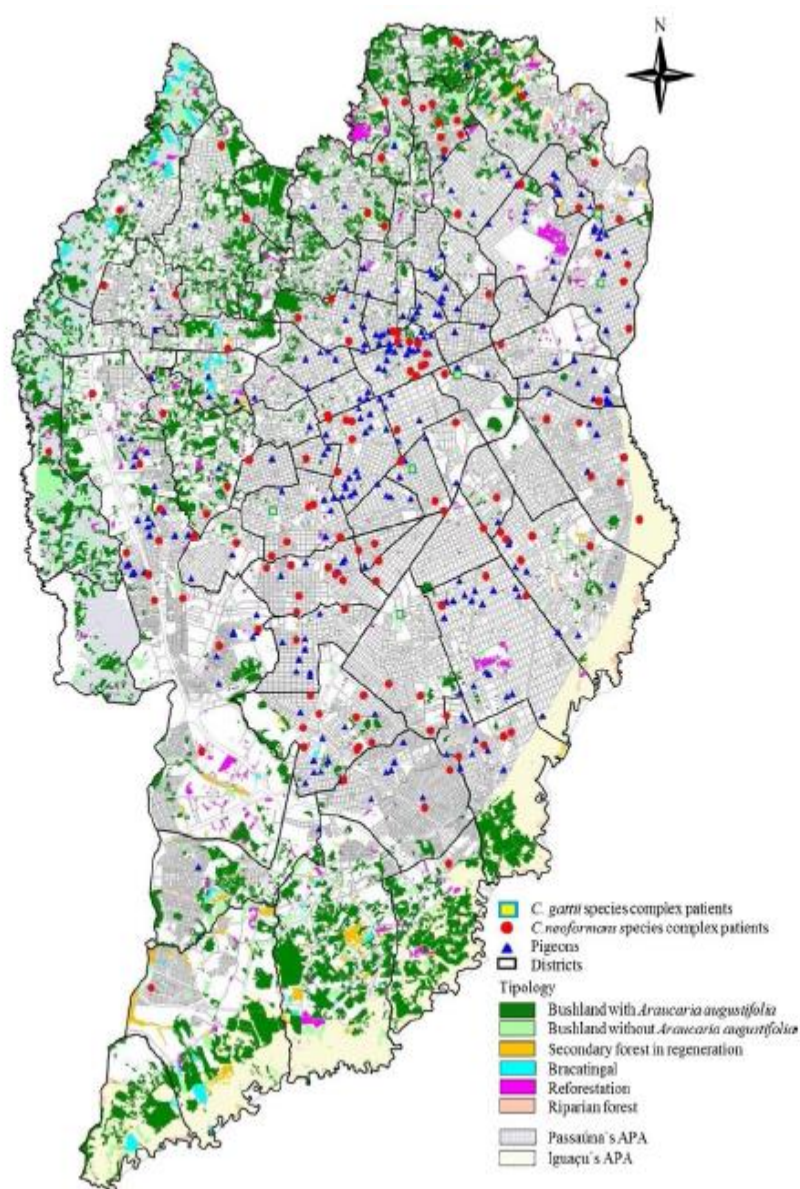


FIGURE 4 Distribution of patients affected by *Cryptococcus neoformans* s.l., *Cryptococcus gattii* s.l., pigeon and tree population in Curitiba. Cases of *C. neoformans* s.l. are not homogeneously distributed around the city; they seem to occur in groups sorted in band-like patterns. The pigeon population is predominantly located in well-urbanised areas with the biggest concentration at the central, older area of the city. Most of the pigeon population was identified close to the residences of patients affected by *C. neoformans* s.l., but many patients affected by *C. neoformans* s.l. were not near pigeon foci, notably in the north of the city and in the city borders. Two of six patients affected by *C. gattii* s.l. were not close to pigeon foci. The main typology registered is the Bushland with *Araucaria angustifolia*. The most populated areas are flecked by little areas of forestation. The densest forestation and big park areas are located on the city borders, on northern and eastern borders, although these areas are blended with many housing areas; no case of *C. gattii* s.l. was registered on these areas and most of the *C. neoformans* s.l. cases were registered far from it. Five of our six cases of *C. gattii* s.l. meningitis occurred close to large unbuilt lands that were relatively poorly forested



the socioeconomic status of local inhabitants, we hypothesised that people living in these localities were exposed to a higher cryptococcal burden for longer periods of time and thus were more likely to develop infection.

Lugarini et al. found *C. neoformans* s.l. in Curitiba's avian guano and compared to HC-UFPR clinical samples.⁶³ All positive environmental sources and 24/25 clinical samples studied (some of which also included in this study) were described as *C. neoformans* sensu stricto VNI/a.⁶³ This suggests that either this species is prevailing in Curitiba or a relationship between these sources and patients is possible. Although Lugarini identified *C. bacillisporus* (VGIII/a) in one clinical sample, none of the 141 environmental samples investigated yielded a positive culture for this cryptococcal species.⁶³ At an elevation of 945 meters above sea level (25° 25' 40"S, 49° 16' 23"W) Curitiba is located in the Southern region of Brazil. It has a subtropical climate with an average temperature of 13°C (winter) to 21°C (summer) and an annual average rainfall of 1500 millimeters. The dissociation between clinical and environmental *C. gattii* s.l. isolates or the relation between this fungus and forested areas has been the subject of previously unanswered questions.⁶⁴

It must be pointed out that while tree and pigeon populations were identified during a single year, namely 2000, 30 years of patient records were evaluated in order to form the patient population for this study. However, it does not explain the discordance between tree population and *C. gattii* s.l. cases because there has been no significant reduction in Curitiba's afforestation since our first case of *C. gattii* s.l. meningitis.^{34,65} Also, we were not able to specifically describe every *C. neoformans*/*C. gattii* s.l. isolate because our hospital does not perform molecular and genetic tests on every clinical sample. Furthermore, because many samples were cultured 10, 20 or 30 years ago, many were impracticable and therefore unavailable for species classification.

In summary, a visual relationship between pigeon population and *C. neoformans* s.l. patients was found. On the other hand, the relationship between tree populations and the distribution of *C. gattii* s.l. cases was not clear. However, 83% of patients affected by this species complex lived near unbuild, poorly forested areas, a possibly source of dust and dry soil.

As far as we know, this is the first study aiming to better understand the geographical relation between cryptococcal meningitis cases and tree or pigeon population distribution, the classical *C. neoformans* and *C. gattii* s.l. respective niches. Although a causal relationship cannot be established due to the design of the study, this research provides a new perspective of the geographical relation between affected patients and these classical niches. Finally, it draws attention to the need for a better characterisation of the main urban sources of *Cryptococcus*, especially *C. gattii* s.l.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Carlos E. Silvano, MD PhD for his kind encouragement and comments on an earlier version of the manuscript and Marcos C. Lange, PhD and Vinicius C. Gonzalez, PhD for their keen review that greatly improved the manuscript.

CONFLICT OF INTEREST

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

REFERENCES

- Cogliati M. Global molecular epidemiology of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*: an atlas of the molecular types. *Scientifica (Cairo)*. 2013;2013:675213.
- Hagen F, Khayhan K, Theelen B, et al. Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complex. *Fungal Genet Biol*. 2015;78:16–48.
- Liu XZ, Wang QM, Theelen B, Groenewald M, Bai FY, Boekhout T. Phylogeny of tremellomycetous yeasts and related dimorphic and filamentous basidiomycetes reconstructed from multiple gene sequence analyses. *Stud Mycol*. 2015;81:1–26.
- Liu XZ, Wang QM, Goker M, et al. Towards an integrated phylogenetic classification of the *Tremellomycetes*. *Stud Mycol*. 2015;81:85–147.
- Gibson JF, Johnston SA. Immunity to *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii* during cryptococcosis. *Fungal Genet Biol*. 2015;78:76–86.
- Kwon-Chung KJ, Fraser JA, Doering TL, et al. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*, the etiologic agents of cryptococcosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014;4:a019760.
- Srikanta D, Santiago-Tirado FH, Doering TL. *Cryptococcus neoformans*: historical curiosity to modern pathogen. *Yeast*. 2014;31:47–60.
- Idnurm A, Bahn YS, Nielsen K, Lin X, Fraser JA, Heitman J. Deciphering the model pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. *Nat Rev Microbiol*. 2005;3:753–764.
- Pyrgos V, Seitz AE, Steiner CA, Prevots DR, Williamson PR. Epidemiology of cryptococcal meningitis in the US: 1997–2009. *PLoS ONE*. 2013;8:e56269.
- Leimann BC, Koifman RJ. Cryptococcal meningitis in Rio de Janeiro State, Brazil, 1994–2004. *Cad Saude Publica*. 2008;24:2582–2592.
- Park BJ, Wannemuehler KA, Marston BJ, Govender N, Pappas PG, Chiller TM. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *Aids*. 2009;23:525–530.
- Smith IM, Stephan C, Hogardt M, Klawe C, Tintelnot K, Rickerts V. Cryptococcosis due to *Cryptococcus gattii* in Germany from 2004–2013. *Int J Med Microbiol*. 2015;305:719–723.
- Galanis E, Macdougall L, Kidd S, Morshed M. Epidemiology of *Cryptococcus gattii*, British Columbia, Canada, 1999–2007. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:251–257.
- Uejio CK, Mak S, Manangan A, Luber G, Bartlett KH. Climatic Influences on *Cryptococcus gattii* populations, Vancouver Island, Canada, 2002–2004. *Emerg Infect Dis*. 2015;21:1989–1996.
- Bymes EJ 3rd, Li W, Ren P, et al. A diverse population of *Cryptococcus gattii* molecular type VGIII in southern Californian HIV/AIDS patients. *PLoS Pathog*. 2011;7:e1002205.
- Chen J, Varma A, Diaz MR, Litvintseva AP, Wollenberg KK, Kwon-Chung KJ. *Cryptococcus neoformans* strains and infection in apparently immunocompetent patients, China. *Emerg Infect Dis*. 2008;14:755–762.
- Choi YH, Ngamskulrungron P, Varma A, et al. Prevalence of the VNIc genotype of *Cryptococcus neoformans* in non-HIV-associated cryptococcosis in the Republic of Korea. *FEMS Yeast Res*. 2010;10:769–778.
- Fang W, Fa Z, Liao W. Epidemiology of *Cryptococcus* and cryptococcosis in China. *Fungal Genet Biol*. 2015;78:7–15.
- Mitchell TG, Perfect JR. Cryptococcosis in the era of AIDS–100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8:515–548.

20. Kohl KH, Hof H, Schrettenbrunner A, Seeliger HP, Kwon-Chung KJ. *Cryptococcus neoformans* var *gattii* in Europe. *Lancet*. 1985;1:1515.
21. Kidd SE, Chow Y, Mak S, et al. Characterization of environmental sources of the human and animal pathogen *Cryptococcus gattii* in British Columbia, Canada, and the Pacific Northwest of the United States. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73:1433–1443.
22. Kidd SE, Hagen F, Tschirke RL, et al. A rare genotype of *Cryptococcus gattii* caused the cryptococcosis outbreak on Vancouver Island (British Columbia, Canada). *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:17258–17263.
23. Granados DP, Castaneda E. Isolation and characterization of *Cryptococcus neoformans* varieties recovered from natural sources in Bogotá, Colombia, and study of ecological conditions in the area. *Microb Ecol*. 2005;49:282–290.
24. Leite DP Jr, Amadio JV, Martins ER, et al. *Cryptococcus* spp. isolated from dust microhabitat in Brazilian libraries. *J Occup Med Toxicol*. 2012;7:11.
25. Kobayashi CC, Souza LK, Fernandes Ode F, et al. Characterization of *Cryptococcus neoformans* isolated from urban environmental sources in Goiânia, Goiás State, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2005;47:203–207.
26. Cattana ME, Sosa Mde L, Fernandez M, Rojas F, Mangiaterra M, Giusiano G. Native trees of the Northeast Argentina: natural hosts of the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* species complex. *Rev Iberoam Micol*. 2014;31:188–192.
27. Brito-Santos F, Barbosa GG, Trilles L, et al. Environmental isolation of *Cryptococcus gattii* VGII from indoor dust from typical wooden houses in the deep Amazonas of the Rio Negro basin. *PLoS ONE*. 2015;10:e0115866.
28. Takahara DT, Lazera Mdos S, Wanke B, et al. First report on *Cryptococcus neoformans* in pigeon excreta from public and residential locations in the metropolitan area of Cuiabá, State of Mato Grosso, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2013;55:371–376.
29. Prefeitura municipal de Curitiba. <http://www.curitiba.pr.gov.br>. Accessed March 03, 2016.
30. Kwon-Chung KJ, Polachek I, Bennett JE. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B and C). *J Clin Microbiol*. 1982;15:535–537.
31. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2009 [cited 2016 07 January]. Available from: <http://www.ibge.gov.br>. Accessed July 01, 2014.
32. Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento Pnud, Ipea; Fundação João Pinheiro, FJP. *Atlas do Desenvolvimento Humano nas Regiões Metropolitanas Brasileiras*. Brasília: PNUD - Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento; 2014, 120p.
33. Staudacher C, Bassi RMAD. *Distribuição de pombos urbanos (Columba livia Gmelin, 1789) em Curitiba, Paraná, Brasil*. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2002.
34. Miguez LAL. *Mapeamento e monitoramento dos maciços vegetais do município de Curitiba - PR, 44. Monografia - Instituto de Engenharia do Paraná*; 2001.
35. FUPF-SMMA. *Mapeamento das áreas verdes do município de Curitiba - PR*. Curitiba: Fundação de pesquisas florestais do Paraná e Secretaria Municipal do Meio Ambiente de Curitiba; 1987.
36. Chan M, Lye D, Win MK, Chow A, Barkham T. Clinical and microbiological characteristics of cryptococcosis in Singapore: predominance of *Cryptococcus neoformans* compared with *Cryptococcus gattii*. *Int J Infect Dis*. 2014;26:110–115.
37. Lindenberg Ade S, Chang MR, Paniago AM, et al. Clinical and epidemiological features of 123 cases of cryptococcosis in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2008;50:75–78.
38. Hasimoto e Souza LK, Costa CR, Fernandes Ode F, et al. Clinical and microbiological features of cryptococcal meningitis. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2013;46:343–347.
39. Dourado I, Veras MA, Barreira D, de Brito AM. AIDS epidemic trends after the introduction of antiretroviral therapy in Brazil. *Rev Saude Publica*. 2006;40(Suppl):9–17.
40. Boletim Epidemiológico - Aids e DST. In: Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST Aids e HIV. Brazil: Ministério da Saúde; 2014:13–17.
41. Mohr JA, Long H, McKown BA, Muchmore HG. In vitro susceptibility of *Cryptococcus neoformans* to steroids. *Sabouraudia*. 1972;10:171–172.
42. McClelland EE, Hobbs LM, Rivera J, et al. The role of host gender in the pathogenesis of *Cryptococcus neoformans* infections. *PLoS ONE*. 2013;8:e63632.
43. Saraiva M, Santos EC, Saraceni V, et al. Epidemiology of infectious meningitis in the State of Amazonas, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015;48(Suppl 1):79–86.
44. Dromer F, Mathoulin-Pelissier S, Fontanet A, Ronin O, Dupont B, Lortholary O. Epidemiology of HIV-associated cryptococcosis in France (1985–2001): comparison of the pre- and post-HAART eras. *Aids*. 2004;18:555–562.
45. Mirza SA, Phelan M, Rimland D, et al. The changing epidemiology of cryptococcosis: an update from population-based active surveillance in 2 large metropolitan areas, 1992–2000. *Clin Infect Dis*. 2003;36:789–794.
46. Ramos AN, Matida LH, Hearst N, Heukelbach J. AIDS in Brazilian children: history, surveillance, antiretroviral therapy, and epidemiologic transition, 1984–2008. *AIDS Patient Care STDs*. 2011;25:245–255.
47. Greco DB, Simão M. Brazilian policy of universal access to AIDS treatment: sustainability challenges and perspectives. *Aids*. 2007;21(Suppl 4):S37–S45.
48. do Lago RF, Costa Ndo R. Policy dilemmas in providing antiretroviral treatment in Brazil. *Cien Saude Colet*. 2010;15(Suppl 3):3529–3540.
49. Ministério da Saúde. *Recomendações para a terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV*. Brazil: Ministério da Saúde; 2004.
50. Kidd SE, Guo H, Bartlett KH, Xu J, Kronstad JW. Comparative gene genealogies indicate that two clonal lineages of *Cryptococcus gattii* in British Columbia resemble strains from other geographical areas. *Eukaryot Cell*. 2005;4:1629–1638.
51. Quintero E, Castaneda E, Ruiz A. Environmental distribution of *Cryptococcus neoformans* in the department of Cundinamarca-Colombia. *Rev Iberoam Micol*. 2005;22:93–98.
52. Emmons CW. Saprophytic sources of *Cryptococcus neoformans* associated with the pigeon (*Columba livia*). *Am J Hyg*. 1955;62:227–232.
53. Filiu WF, Wanke B, Aguiar SM, Vilela VO, Macedo RC, Lazera M. Avian habitats as sources of *Cryptococcus neoformans* in the city of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002;35:591–595.
54. Khan ZU, Pal M, Randhawa HS, Sandhu RS. Carriage of *Cryptococcus neoformans* in the crops of pigeons. *J Med Microbiol*. 1978;11:215–218.
55. Emmons CW. Isolation of *Cryptococcus neoformans* from soil. *J Bacteriol*. 1951;62:685–690.
56. Neilson JB, Fromtling RA, Bulmer GS. *Cryptococcus neoformans*: size range of infectious particles from aerosolized soil. *Infect Immun*. 1977;17:634–638.
57. Springer DJ, Saini D, Byrnes EJ, Heitman J, Frothingham R. Development of an aerosol model of *Cryptococcus* reveals humidity as an important factor affecting the viability of *Cryptococcus* during aerosolization. *PLoS ONE*. 2013;8:e69804.
58. INMET. <http://www.inmet.gov.br/>. Accessed March 03, 2016.
59. Ellis DH, Pfeiffer TJ. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. *J Clin Microbiol*. 1990;28:1642–1644.
60. Springer DJ, Billmyre RB, Filler EE, et al. *Cryptococcus gattii* VGIII isolates causing infections in HIV/AIDS patients in Southern California:

- identification of the local environmental source as arboreal. *PLoS Pathog.* 2014;10:e1004285.
61. Fortes ST, Lazera MS, Nishikawa MM, Macedo RC, Wanke B. First isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from a native jungle tree in the Brazilian Amazon rainforest. *Mycoses.* 2001;44:137–140.
 62. Goldman DL, Khine H, Abadi J, et al. Serologic evidence for *Cryptococcus neoformans* infection in early childhood. *Pediatrics.* 2001;107:E66.
 63. Lugarini C, Goebel CS, Condas LA, et al. *Cryptococcus neoformans* isolated from Passerine and Psittacine bird excreta in the state of Parana, Brazil. *Mycopathologia.* 2008;166:61–69.
 64. Chaturvedi V, Chaturvedi S. *Cryptococcus gattii*: a resurgent fungal pathogen. *Trends Microbiol.* 2011;19:564–571.
 65. Miguez LAL. Monitoramento da cobertura vegetal arbórea do município de Curitiba – PR. In: SMMA. Prefeitura Municipal de Curitiba; 1994:10–14.